

**ANTIKÖRPERTITERBESTIMMUNGEN MIT DER
INDIREKTEN IMMUNFLUORESCENZTECHNIK
(IgG, IgM) UND DER INDIREKTEN
HÄMAGGLUTINATIONSMETHODE BEI PATIENTEN
MIT CHRON. NICHT OBSTRUKTIVER
PYELONEPHRITIS**

Gerhard Waldmann

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551924_0042

Aus der Kinderklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. K. BETKE
in Zusammenarbeit mit
dem Institut für Hygiene und Medizin. Mikrobiologie
der Technischen Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. K. LIEBERMEISTER

ANTIKÖRPERTITERBESTIMMUNGEN MIT DER INDIREKTEN
IMMUNFLUORESCENZTECHNIK (IgG, IgM) UND DER
INDIREKTEN HÄMAGGLUTINATIONSMETHODE BEI PAT-
IENTEN MIT CHRON. NICHT OBSTRUKTIVER PYELONE-
PHRITIS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Gerhard Waldmann

aus

Weikersheim-Queckbronn

München 1974

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. F. DASCHNER

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. K. BETKE

Dekan: Prof. Dr. med. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 1974



Meinen Eltern

I N H A L T S A N G A B E

S e i t e

EINLEITUNG	1
MATERIAL UND METHODIK	4
ERGEBNISSE	
1. Immunfluoreszenz mit E.coli-, Enterokokken- und Klebsiellen- Antigenen	13
2. AKT-Mittelwert aller Titerbe- stimmungen mit der Indirekten Hämagglutination und mit der Indirekten Immunfluoreszenz	14
3. Durchschnittliche AKT-Höhe zum Zeitpunkt des Rezidivs	15
4. Durchschnittliche AKT-Höhe bei der 1. Kontrolluntersuchung nach 3 Wochen	16
5. Durchschnittliche AKT-Höhe bei der 2. Kontrolluntersuchung nach 8 - 9 Wochen	17
6. Absolute AKT-Mittelwerte bei Pa- tienten mit einmaligem Rezidiv und Patienten mit häufigen Rezi- diven (E.coli)	18
7. Vergleich der AKT-Höhe nach Rezi- div und 8 Wochen ohne Rezidiv (E.coli)	20
8. Signifikante AK-Titerveränderung nach Rezidiv (alle Erreger)	22

9. AKT-Veränderungen bei Vorliegen einer E.coli-Infektion	26
10. AKT-Gesamtverläufe der HA-, IgG- und IgM-AK-Werte bei Auswertung von 35 E.coli-Rezidiven	28
11. AKT-Gesamtverläufe bei Auswertung von 8 Enterokokken-Rezidiven	30
12. IgG-, IgM- und HA-AKT-Verläufe bei Patienten ohne weitere Rezidive verglichen mit Patienten mit häufigen E.coli-Rezidiven	32
13. Beziehung zwischen IgM- und HA-Verlauf bei E.coli-Rezidiven unter Berücksichtigung des IgG-AK-Verhaltens	35
DISKUSSION	37
ZUSAMMENFASSUNG	44
LITERATUR	45

I. E I N L E I T U N G

Die Pyelonephritis (PN) - bei Harnwegsinfektionen (HWI) im Kindesalter handelt es sich praktisch um Pyelonephritiden (34) - tritt häufig bereits im Säuglings- und Kleinkindalter auf. Bei Nichterkennen der Erkrankung, oder bei zu kurzer Behandlung, geht sie in die oft symptomarme chronische Pyelonephritis (10 - 30 % aller PN) (12) über. Schwerwiegende Spätschäden sind oft die Folge. (29) Jede nicht ausgeheilte Nierenbeckenentzündung unter Mitbeteiligung des Nierenparenchyms kann eine Schrumpfniere mit Bluthochdruck im Erwachsenenalter nach sich ziehen. (29, 58) Deshalb kommt der Diagnose eines Rezidives einer akuten oder jeden chronischen Pyelonephritis besondere Bedeutung zu.

Klinische Symptome gelten nur dann als Anzeichen eines Rezidives, wenn gleichzeitig eine signifikante Keimzahl im Urin festgestellt wird. Neben dem Befund einer Bakteriurie (100 000 Keime pro ml Mittelstrahlurin ist das Vorliegen einer Leukozyturie ein wichtiges Zeichen für das Vorhandensein einer Harnwegsinfektion.

Bei der Suche nach weiteren diagnostischen Parametern trat in den letzten Jahren der Antikörpertiter (AKT) in den Vordergrund. Mit der Erkenntnis, daß Antikörper als Folge einer Infektion vermehrt im Patientenserum auftreten, wurden serologische Methoden zur Bestimmung dieser Antikörper entwickelt.

Die 1898 von PFAUNDLER (44) erstmals beschriebene homologe Bakterienagglutination brachte uneinheitliche Ergebnisse. Dagegen wird die nützliche Anwendung der von NETER et al (39, 40, 27) eingeführten indirekten Hämagglutinationstechnik nahezu ausnahmslos hervorgehoben.

Zahlreiche Veröffentlichungen amerikanischer und skandinavischer Autoren, (1-4, 12, 21, 22, 24, 61, 63) die ebenfalls mit Hilfe dieser Methode AKT-Bestimmungen durchführten, trugen teilweise zur Klärung der vielen offenen Fragen bei.

Danach sollten AKT-Untersuchungen geeignet sein (20)

1. eine reine Hohlraumentzündung von einer PN abzugrenzen,
2. eine PN bei niedriger Keimzahl im Urin zu diagnostizieren,
3. chronische Nephropathien unklarer Genese genauer zu beurteilen,
4. den Heilungsprozeß einer PN zu kontrollieren.

Über negative Erfahrungen wird ebenfalls berichtet:

1. die absolute Titerhöhe sagt nichts über die Schwere der Erkrankung aus (28).
2. Die einmalige Bestimmung des AKT erbringt keinen diagnostischen Nutzen, nur die Beobachtung des Verlaufes besitzt Aussagekraft. (34, 49, 58)
3. Vor allem bei der chronischen PN, an der die hier untersuchten Patienten leiden, ist die Aussagekraft des AKT umstritten. (28, 58)

Bei der Beurteilung des AKT muß man berücksichtigen, daß bei Bestimmung mit der indirekten HA-Methode nicht die gesamte immunologische Antwort des Organismus erfaßt werden kann. Die Hämagglutination begünstigt vor allem die Bestimmung von Antikörpern vom IgM-Typ. Von Interesse sind aber auch die IgG-Antikörper, da sie den Hauptanteil aller gegen das O-Antigen gebildeten AK bei PN-Patienten mit Rezidiven (chron. PN) auszumachen scheinen. Gerade bei dieser Patientengruppe ist die Gefahr erneuter Rezidive doppelt so groß wie bei Patienten mit akuter PN. Deswegen dürfte der Nachweis eines erhöhten IgG-AK-Spiegels gerade für das frühzeitige Erkennen von PN-Rezidiven von Nutzen sein. Als einfache Methode hat sich hier die Immundiffusion bewährt. Ihre Anwendung als Screening-

Test für präzipitierende IgG-Antikörper muß aber noch ausführlicher getestet werden. (21)

Ein direkter mikroskopischer Nachweis der Antigenantikörperbindung ist mit der von COONS und WELLER 1954 erstmals beschriebenen "Indirekten Immunfluoreszenzmethode (IFA)" möglich. Mit dieser Methode können neben dem Antigen die Antikörper (IgG, IgM und IgA) bei Verwendung der entsprechenden Antiimmunglobuline gleichzeitig bestimmt werden. Die Empfindlichkeit gegenüber den verschiedenen AK ist gleich.

Die Anwendung der Indirekten Immunfluoreszenz zur Bestimmung der Serumantikörper, die als Folge einer spezifischen Infektion auftreten, ist in verschiedenen Bereichen der Mikrobiologie beschrieben worden. (9, 10, 11, 20, 26, 33, 46, 47, 52, 57)

In den letzten Jahren wurde der IgM/IFA-Test vor allem zur frühzeitigen spezifischen Feststellung congenitaler Infektionen angewandt. So schlägt REMINGTON die Entwicklung eines Screening-Programms zur Bestimmung von congenitalen Infektionen unter Verwendung dieses Testes vor. IgM-Antikörper werden aber auch bei Erwachsenen mit diesem Verfahren bestimmt, da nach Immunisierung diese Antikörper bei einer Infektion zuerst gebildet werden. So soll diese Methode zur immunologischen Frühdiagnose der Syphilis geeignet sein. (37) Bei der Diagnose der Toxoplasmose kann man heute sicher annehmen, daß die Indirekte Immunfluoreszenzreaktion (IFT) den Sabin-Feldman-Test ersetzen kann. (10)

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der gleichzeitig durchgeführten IFA- und HA-AKT-Bestimmungen von Kindern mit chronischer nicht obstruierender Pyelonephritis mit folgender Fragestellung verglichen.

Welche Empfindlichkeit zeigen beide Tests gegenüber Erregern von HWI?

Welche Resultate erhält man bei Patienten mit einem akuten Schub einer chronischen PN?

Wie liegen die AKT-Werte bei rezidivfreien Patienten?

Ist es möglich, durch Bestimmung von IgG-AKT, Patienten mit akuter oder chronischer PN zu unterscheiden?

Welche Titerveränderungen sind nach Feststellung eines Rezidives nachzuweisen und wie sieht der Gesamttiterverlauf bei Feststellung der AKT zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion aus?

Inwiefern unterscheiden bzw. gleich sich die Ergebnisse bei der IFA-Technik und der Indirekten Hämagglutination?

II. MATERIAL UND METHODIK

K r a n k e n g u t

Die Seren und homologen Keime der vorliegenden Untersuchung stammen von 38 Kindern, die alle an chronischer nicht obstruktiver Pyelonephritis leiden und deshalb regelmäßig zur Überwachung in die Pyelonephritis-Sprechstunde (Spezialsprechstunde) der Universitätskinderklinik München kommen.

Berücksichtigt werden konnten während der ersten Untersuchungsperiode nur Kinder, die E.Coli- (21 Patienten) und Enterokokkeninfektionen (8 Patienten) hatten.

Bei den 7 Kindern der zweiten Untersuchungsperiode hatten 6 ein E.coli-Rezidiv, 1 Kind hatte eine Klebsielleninfektion.

U n t e r s u c h u n g e n

Die AKT wurden bei den 29 Kindern der ersten Untersuchungsperiode in der Regel einmal pro Monat bestimmt. Der Untersuchungszeitraum betrug im Durchschnitt 6 Monate, der kürzeste Zeitraum war 16 Wochen, der längste umfaßte 40 Wochen.

In einer zweiten Untersuchungsperiode wurden bei 7 Kindern innerhalb 8 Wochen 6 AKT-Bestimmungen ermittelt.

Insgesamt wurden 276 AKT-Bestimmungen mit der Indirekten Hämagglutinationsreaktionsreaktion sowie die gleiche Zahl IgG- und IgM-AKT-Bestimmungen mit der Indirekten Immunfluoreszenzmethode durchgeführt.

Alle AKT-Werte wurden in ein Koordinatensystem eingetragen. Die X-Achse wird als Zeitachse (Wocheneinteilung) verwendet, auf die Y-Achse wird die AKT-Höhe aufgetragen. Man erhält somit ein Schaubild mit drei AKT-Verläufen.

M e t h o d i k

1. Uringewinnung

Der Urin wird nach der "cleanvoided" Methode (59) als Mittelstrahlurin gewonnen. Dabei wird die erste und letzte Urinportion verworfen. Die mittlere Portion wird in einem sterilen Gefäß aufgefangen und verarbeitet.

Bei Säuglingen wird der in sterilen Beuteln aufgefangene Spontanurin verwendet.

2. Urinuntersuchung

Leukozyturie

Frisch gewonnener Urin wird unter dem Lichtmikroskop in der Fuchs-Rosenthal-Kammer untersucht. Vorhandene Leukozyten werden ausgezählt. Folgende Einteilung wird in der Universitätskinderklinik München verwendet:

normal: weniger als 20 Leukozyten/

verdächtig: 20 - 50 Leukozyten/

pathologisch: mehr als 50 Leukozyten/

Keimzahlbestimmung

Frisch gewonnener Urin wird möglichst schnell (Aufbewahrung bei 4°C) mit den in der bakteriologischen Routinediagnostik üblichen Methoden auf Keimwachstum untersucht.

- a) Die Keime werden auf Blut-Agar-Nährboden in Oberflächenkultur nachgewiesen.
- b) Bebrütung 18 Stunden bei 37°C.
- d) Auszählung der gewachsenen Kolonien:
 - mehr als 100 000 Keime/ml gelten als sicheres pathologisches Zeichen für das Vorliegen einer Harnwegsinfektion.
 - Mehr als 10 000 Keime/ml sind ein fraglicher Hinweis auf das Vorhandensein einer PN.

3. Blutentnahme und Serumbereitung

Es werden ungefähr 5 bis 10 ml Blut aus dem Unterarm durch Venenpunktur entnommen und bei 4°C ungefähr 4 Stunden aufbewahrt. Anschließend wird es bei 2500 Umdrehungen/min. zentrifugiert. Das auf diese Weise erhaltene Serum wird in drei Portionen so aufgeteilt, daß für jede Untersuchungsmethode eine ausreichende Menge Serum zur Verfügung steht.

Die Aufbewahrung der Seren erfolgt bei - 18°C.

4. Antikörpertiterbestimmung

Für die Antikörpertiterbestimmung werden 2 Methoden verwendet:

Die Indirekte oder Passive Hämagglutinationstechnik nach NETER (40, 41), modifiziert von BADER (6)

a) Prinzip:

Körper-(O-)Antigen verschiedener Bakterien (E.coli, Enterokokken, B.proteus spuriae, Klebsiella, Pneumoniae und Pseudomonas aeruginosa) wird wegen seiner Affinität zur Oberfläche menschlicher und tierischer Erythrozyten (Trägerpartikel) an diese adsorbiert. Die Erythrozyten werden so sensibilisiert, d. h. sie werden Träger einer antigenen Eigenschaft.

Bei der spezifischen Vereinigung zwischen Antigen und Antikörper werden die Erythrozyten in die sich bildenden Antigen-Antikörperverbindungen mit einbezogen. Während Antigene in molekular gelöstem ungebundenem Zustand nur mit unverdünnten Antiseren präzipitieren, ist nach Fixierung des Antigen an die Erythrozyten noch mit hohen Verdünnungen des Antiserums eine positive Hämagglutination zu erreichen. Es können so auch noch niedrige Antikörperkonzentrationen erfaßt werden.

- b) Arbeitsgänge bei der Indirekten Hämagglutination am Canalco-Autotiergerät (Mikromethode)

Antigenbereitung

Der isolierte (homologe) Keim in Monokultur wird in die Nährbouillon eingepflegt und 24 h bei 37°C bebrütet. Aus dem gewachsenen Bouillon wird der Stamm mit einem Tupfer auf Agarplatten überimpft, die erneut 24 h bei 37°C bebrütet werden. Es folgt die Abschwemmung der Bakterien mit 10 ml NaCl-Lösung (0,9%). Die Bakteriensuspension wird eine Stunde bei 120°C autoklaviert und eine Stunde bei 3000 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wird als Antigen verwendet. - Es handelt sich dabei um freigesetzte Polysaccharide. -

Das Sediment wird verworfen.

Herstellung der Erythrozytenaufschwemmung

Menschliches Blut der Blutgruppe Null, Rh positiv wird defibriniert und das Serum entfernt.

Die Erythrozyten - es können auch Hammelerythrozyten verwendet werden - werden drei Mal mit 0,9 % NaCl-Lösung ausgewaschen, bei 3000 U/min jeweils 10 Min. zentrifugiert und mit physiologischer NaCl auf 1:250 verdünnt.

Antigentiterbestimmung

Vom Antigen wird eine Verdünnungsreihe hergestellt. Gleiche Mengen Erythrozytenaufschwemmung (0,25 ml) und Antigen (0,25 ml) werden vermischt. Im Wasserbad bei 37°C (30 min) lagert sich das Antigen teilweise an die Erythrozyten an. Überschüssiges Antigen wird drei Mal mit NaCl-Lösung (0,9%) ausgewaschen und je 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird abgegossen. Jedes Röhrchen wird auf die ursprüngliche Menge (0,5 ml) wieder aufgefüllt. Dazugegeben werden dann 0,5 ml einer Serumverdünnung. Die Röhrchen werden erneut 30 Min. ins Wasserbad gestellt (37°C) und zum Schluß bei 3000 U/min. 3 Minuten zentrifugiert.

Mikroserumtiterbestimmung

In das zweite Loch der Autotray-Einmalplatten (V-Form) gibt man 0,05 ml inaktives Serum (eine halbe Stunde bei 56°C inaktiviert), das 1:10 verdünnt ist. Man stellt eine geometrische Verdünnungsreihe bis 1:20480 her, d. h. ab dem dritten Loch sind jeweils 0,05 ml NaCl (0,9%) vorgelegt. Das vorher austitrierte Antigen wird zu gleichen Teilen mit Erythrozyten vermischt und verdünnt auf 1:250. Während des folgenden Wasserbades (30 Min. bei 37°C) lagert sich das Antigen an die Erythrozyten an. Überschüssiges Antigen wird durch dreimaliges Auswaschen mit Zentrifugieren entfernt. Mit dem Auffüllen auf die ursprüngliche Menge erhält man die benötigte Antigen-Erythrozytensuspension. Von dieser wird in jedes Loch mit den verschiedenen Serumverdünnungen 0,05 ml gegeben. Nach dem abschließenden Wasserbad (30 Min. bei 37°C) wird der Titer abgelesen. Der Antikörpertiter gibt die Titerstufe an, bei der eben noch eine Agglutination (Schollenbildung) sichtbar ist.

Kontrolle: Wird die Antigen-Erythrozyten-Suspension einem positiven Serum (Patientenserum) zugegeben, erfolgt Agglutination. Wird sie einem negativen Serum (Standardserum) zugegeben, bleibt die Agglutination aus.

Blocktitration

Die von BADER modifizierte Form der Indirekten Hämagglutinationstechnik unterscheidet sich von der von NETER beschriebenen durch die Ausführung einer Blocktitration vor der Antikörperbestimmung. Es ist so möglich, die optimale Antigenkonzentration für die entsprechende Titerbestimmung herauszufinden.

Bei der von uns verwendeten Blocktitration wird die Antigen- und Serumtiterbestimmung kombiniert. Im selben Versuch werden sowohl das Serum als auch das Antigen verdünnt und getestet.

Die Indirekte Immunfluoreszenztechnik ("Sandwich-Methode" nach WELLER und COONS (1954) (14)

a) Prinzip:

Das auf einem Objektträger fixierte Antigen bindet Immunoglobuline (AK) des homologen Antiserums (Patientenserum). Es entsteht ein Antigen-Antikörper-Komplex. Durch mehrfaches Waschen werden Proteine heterologer Immunspezifität wieder abgespült, während homologe Immunoglobuline an das Antigen gebunden bleiben. Setzt man zum Antigen-Antikörperkomplex präzipitierende Fluoreszenzantikörper (Anti-Antikörper) dazu, so binden die im Komplex gebundenen Antikörper - wegen ihrer Proteinstruktur selbst als Antigen wirksam - die mit Fluoreszenzfarbstoff markierten Antikörper, wenn diese artspezifisch sind.

Die Immunglobuline im Patientenserum haben also zwei Funktionen:

1. dem homologen Keim gegenüber wirken sie als Antikörper,
2. den fluoreszierenden Antikörpern gegenüber verhalten sie sich wie ein Antigen.

b) Arbeitsgänge bei der "Indirekten Immunfluoreszenztechnik

Antigenpräparation

Der aus dem Urin isolierte homologe Stamm wird in Traubenzuckerbouillon eingepflegt, 24 Stunden bei 37°C bebrütet und anschließend bei 2500 U/min 15 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wird abgegossen, das Röhrchen wieder mit Phosphatpuffer aufgefüllt. Es folgt ein zweimaliger Waschvorgang mit anschließendem Abzentrifugieren (2 x 15 Min.) und erneutem Auffüllen der Röhrchen mit gepufferter Phosphatlösung.

Die Bakteriensuspension wird auf die gewünschte Dichte verdünnt. Dies ist erreicht, wenn in einem mit Fuchsin gefärbten Antigenpräparat bei Betrachtung im Lichtmikroskop die Bakterien nicht geschichtet erscheinen, sondern einschichtig nebeneinander liegen.

Herstellung des Antigenpräparates

- a) Die Antigensuspension wird auf eine markierte Stelle eines vorher sorgfältig gereinigten Objektträgers mit der Öse gleichmäßig aufgetragen und 30 Min. bei 37°C getrocknet.
- b) Die Fixierung der Bakterienpräparate erfolgt durch Hitze. Jeder Objektträger wird 3 Mal durch die Flamme gezogen.

Serumverdünnung

Vom Patientenserum werden unter Verwendung von Mikrotiterplatten verschiedene Verdünnungsreihen

hergestellt:

Bei IFA/IgG: 1:10, 1:20, 1:40 bis 1:1280

Bei IFA/IgM: 1: 4, 1: 8, 1:16 bis 1:1024

Die Verdünnungsreihe bei IFA/IgM wurde anders gewählt, da die IgM-Titerwerte in der vorliegenden Untersuchung überwiegend im unteren Titerbereich (1:4 - 1:64) liegen und deshalb bei Verwendung dieser Verdünnung eine genauere Bestimmung der AK in diesem Bereich möglich ist.

Im zweiten Untersuchungsabschnitt wird sowohl für IgG-AKT als auch für IgM-AKT-Bestimmung die zweite Verdünnungsreihe (1:4 - 1:1024) verwendet.

Von jeder Titerstufe des verdünnten Patientenserums werden 0,02 ml benötigt, die auf das Antigen aufgetragen werden.

Konjugatverdünnung

Es wird das mit Fluoresceinisothiocyanat konjugierte Antihuman-IgG- bzw. Antihuman-IgM-Serum der Behringwerke Marburg verwendet. In einem Vorversuch wird die Gebrauchsverdünnung jeder Charge ermittelt. Vom Konjugat wird eine Verdünnungsreihe hergestellt. Man benötigt außerdem Patientenserum und homologes Antigen, die mit bereits verdünntem Konjugat eine deutliche Fluoreszenz zeigten.

Zeitlicher Ablauf des Verfahrens

Einzelne Arbeitsgänge	Zeitdauer
Inkubieren der Antigenpräparate mit verdünntem Patientenserum in der feuchten Kammer (bei 37°C)	30 Min.
Waschen der Objektträger mit gepufferter NaCl-Lösung	3 x 5 Min.
Trocknen bei 20 - 37°C oder mit Fließpapier	
Beschicken der Präparate mit 0,01 ml mark. Antiglobulinserum inkubieren in der feuchten Kammer bei 37°C	30 Min.
Waschen der Objektträger mit gepufferter NaCl-Lösung	3 x 5 Min.

Einzelne Arbeitsgänge

Trocknen,

1 Tropfen gepufferte Glyzerin-Lösung auf das Präparat aufbringen und mit Deckgläsern abdecken.

Das Präparat ist fertig zum Ablesen des AKT unter dem Fluoreszenzmikroskop.

Kontrollen

a) Kontrolle auf Spezifität:

Ein Objektträger mit fixiertem Antigen wird statt mit Patientenserum nur mit NaCl-Puffer überschichtet. Durch das Fehlen der Seruman-tikörper darf kein fluoreszenzmarkiertes Anti-globulin gebunden werden, es dürfen keine fluo-reszierende Antikörper im Mikroskop sichtbar sein.

b) Kontrolle auf Autofluoreszenz:

Ein Objektträger mit fixiertem Antigen wird statt mit Patientenserum / Antiglobulinlösung nur mit NaCl-Puffer beschickt. Es darf keine Fluoreszenz auftreten.

Fluoreszenzmikroskopie

Die Präparate wurden im Leitz-Mikroskop "Orthoplan" (mit dem Auflichtilluminator nach Ploem, der Quecksilberlampe ABO-200, der Blaulichtanregung mit Interferenzfilter KR-490 und zugeordnetem Sperrfilter K-510) abgelesen.

III. E R G E B N I S S E

1. Immunfluoreszenz mit E.coli-, Enterokokken- und Klebsiellen-Antigenen

Mit der in "Material und Methoden" beschriebenen Technik wurden die erwähnten Antigene hergestellt. Die Keime zeigten mit einem positiven homologen Patientenserum eine intensive strahlend grüne Fluoreszenz. (Abb. 1)



Abb. 1 Indirekte Immunfluoreszenz mit E.coli.
Markierung mit Anti-Humanglobulin.

2. AKT-Mittelwert aller Titerbestimmungen mit der Indirekten Hämagglutination und mit der Indirekten Immunfluoreszenz. (Abb. 2)

Um zu erfahren, im Bereich welcher Titerstufen die beiden Methoden arbeiten, wurden alle AKT-Werte, die mit der HA-Technik bestimmt wurden und die mit der Indirekten Immunfluoreszenz festgestellten Titerwerte gemittelt. Der AKT-Mittelwert bei der letzten Methode wurde sowohl für IgG als auch für IgM getrennt errechnet.

Bei den mit der HA-Methode bestimmten 215 AKT erhält man einen Mittelwert von 7,84 Titerstufen. Dies entspricht einem Titer, der zwischen 1:640 und 1:1280 liegt. 232 Patientenserum wurden ausgewertet unter Verwendung des IFA-Tests. Die durchschnittliche AKT-Höhe bei den IgG-Titerbestimmungen lag bei 2,82, das entspricht fast einem Titer von 1:40.

Da sich schon nach kurzer Zeit herausstellte, daß sich bei den PN-Patienten vor allem die IgM-Werte im unteren Titerbereich bewegen, wurde die Patientenserum-Verdünnungsreihe geändert. Während bei HA und IgG/IFA-AK-Bestimmungen 1:10, 1:20, 1:40 .. usw. verdünnt wurde, wurde für IgM/IFA die Reihe 1:4, 1:8, 1:16 ... usw. verwendet.

Der ebenfalls aus 232 AKT errechnete Mittelwert für IgM beträgt dann 2,68. Er liegt zwischen Titerstufe 1:8 und 1:16.

Die IgM- und IgG-Werte liegen somit viel niedriger als die HA-Titer. Bei der HA-Methode werden wesentlich höhere absolute AKT-Werte gefunden, was auf eine größere Empfindlichkeit dieses Verfahrens hinweist.

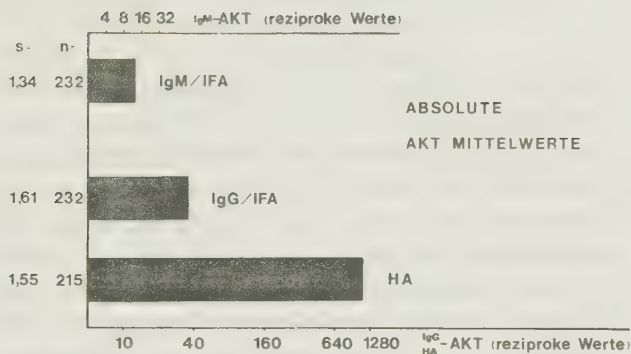


Abb. 2 Vergleich der mit der HA- und IFA-Methode bestimmten absoluten AKT-Mittelwerte

3. Durchschnittliche AKT-Höhe zum Zeitpunkt des Rezidivs

In den folgenden Untersuchungen wurde die durchschnittliche AKT-Höhe zu verschiedenen Zeitpunkten nach Rezidiv bestimmt, zunächst am Tag der Diagnose des Rezidivs.

Entscheidendes Kriterium für das Vorliegen einer Infektion bei einem Patienten war die Bestimmung der Keimzahl. Es mußten 100 000 Keime/ml Urin vorliegen.

Gegen den homologen Stamm (E.coli, Enterokokken und Klebsiella) wurde der AKT am Tag des Rezidivs auf

verschiedene Weise bestimmt:

a) der HA-AKT mit der

Indirekten Hämagglutinationsmethode (HA)

b) der IgG- und IgM-AKT mit der

Indirekten Immunfluoreszenz (IFA)

Aus den absoluten AKT-Werten der Patienten wurde der Mittelwert errechnet unter Einbeziehung aller aufgetretenen Erreger.

Bei Anwendung der HA-Methode erhält man einen AKT-Mittelwert von 7,2 (0,2 Stufen über 1:640). Mit dem IFA-Test wurde ein IgG-AKT-Mittelwert von 3,0 (1:40) und ein IgM-AKT-Mittelwert von 2,6 (d. h. 0,6 Stufen über 1:8) bestimmt. Es muß an dieser Stelle noch einmal darauf hingewiesen werden, daß für die IgM-AKT-Bestimmung eine andere Patienten-serumverdünnungsreihe verwendet wurde, als bei IgG- und HA-AKT.

4. Durchschnittliche AKT-Höhe bei der 1. Kontrolluntersuchung nach 3 Wochen

Unter Berücksichtigung aller Erreger wurden die absoluten AKT-Mittelwerte der Patienten beim folgenden Besuch in der Sprechstunde, also in der Regel 3 Wochen nach dem Rezidiv, das mittlerweile behandelt worden war, ermittelt und auch hier nur gegen den homologen Stamm.

Der HA-AKT-Mittelwert beträgt danach 7,5 (0,5 Stufen über 1:640). Der IgG- und IgM-Wert bleibt unverändert.

5. Durchschnittliche AKT-Höhe bei der 2. Kontrollunter-
suchung nach 8 bis 9 Wochen (alle Erreger)

Wie bei den vorhergehenden Untersuchungen wurden auch hier nur die homologen AKT gemittelt. Die AKT-Bestimmung wurde nach frühestens 6 Wochen maximal aber 11 Wochen durchgeführt, woraus sich für den Zeitpunkt des 2. Besuches in der Sprechstunde eine durchschnittliche Wochenzahl von 8 1/2 Wochen ergibt.

Es wurden alle Erreger (E.coli, Enterokokken und Klebsiella) in die Untersuchung einbezogen.

Der HA-AKT-Mittelwert veränderte sich unwesentlich gegenüber der 3. Woche und liegt mit 7,7 (0,7 Stufen über 1:640) um eine halbe Stufe über dem Ausgangswert. Der mittlere IgG-AKT fällt auf 2,8 (0,8 Stufen über 1:20) ab. Von 2,8 auf 2,6 (0,6 über 1:8) zurückgegangen, ist auch der IgM-AKT-Mittelwert.

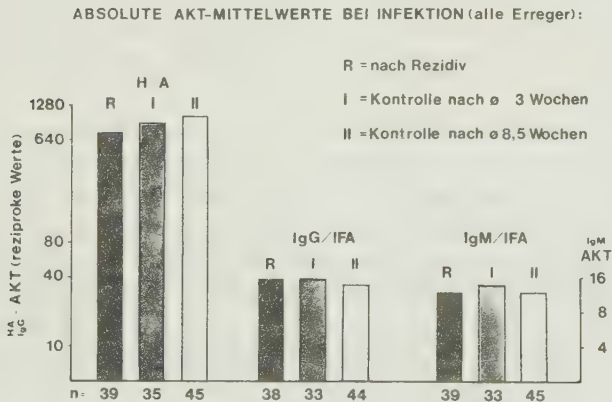


Abb. 3 Absolute AKT-Mittelwerte zu verschiedenen Zeitpunkten nach Infektion (alle Erreger)

Aus Abb. 3, die die Ergebnisse von 2., 3. und 4. übersichtlich darstellt, läßt sich keine wesentliche Veränderung der absoluten AKT-Werte, sowie der Relation von IgG- und IgM-AKT zu HA-AKT innerhalb des Untersuchungszeitraumes feststellen. Auch hier ist wieder die HA-Methode am empfindlichsten, da sie die höchsten absoluten Titer liefert.

6. Absolute AKT-Mittelwerte bei Patienten mit einmaligem Rezidiv und Patienten mit häufigen Rezidiven (E.coli)

Aufgrund der geringen Titerveränderungen in den vorausgegangenen Untersuchungen wurde jetzt die Empfindlichkeit der einzelnen Methoden bei Patienten mit einem oder mehreren Rezidiven im Untersuchungszeitraum getrennt überprüft.

Zu diesem Zweck wurden die Patienten in 2 Gruppen unterteilt. Die eine Gruppe hatte nur zu Beginn des Untersuchungszeitraumes ein Rezidiv, während bei der zweiten Gruppe häufig (im Durchschnitt bereits wieder in der 6. und 12. Woche) Rezidive festgestellt wurden.

Da die E.coli-Infektionen mit 80 % den weitaus größten Teil des Untersuchungsmaterials ausmachten, wurde nur diese Erregerspezies ausgewertet. Die 3 verschiedenen homologen AKT-Bestimmungen wurden mit den oben beschriebenen Methoden (HA und IFA) durchgeführt. Es wurden wieder die mittleren AKT am Tag des Rezidivs nach ungefähr 3 Wochen und etwa 8 Wochen nach Infektion errechnet. Die so erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

6.1 Patienten mit häufigen Rezidiven

Aus den homologen HA-AKT-Werten ergab sich zu Beginn des Rezidivs ein Mittelwert von 8,0 (1:1280). Dieser Wert ist nach 3 Wochen um 0,85 Titerstufen angestiegen und fällt bis zur 9. Woche wieder auf die Ausgangs-

titerhöhe zurück. Dieselbe Entwicklung zeigt sich bei Betrachtung der IgM-AKT-Werte. Der Titeranstieg ist hier mit über einer Titerstufe höher und erreicht nach 3 Wochen 1:16 und eine halbe Stufe. Bei dem mittleren IgG-AKT fällt auf, daß er sich bis zur 3. Woche nicht verändert und der Ausgangswert von 3,7 (0,7 Stufen über 1:40) auch bis zur 2. Kontrolle nur unwesentlich zurückging.

Tabelle 1: absolute AKT-Mittelwerte bei E.coli-Infektion

- a Patienten mit häufigen Rezidiven im Zeitraum von 9 Wochen (n = 24)
- b Patienten ohne erneutes Rezidiv im gleichen Zeitraum (n = 15)

		Tag des Rezidivs	1. Kontrolle (nach 3 Wo.)	2. Kontrolle (nach 8,5 Wo.)
H A	a	8,00	8,85	8,16
	b	7,16	7,00	7,10
IgM	a	2,50	3,60	3,00
	b	2,50	2,70	1,65
IgG	a	3,75	3,70	3,50
	b	2,30	2,90	2,05

6.2 Patienten mit einem Rezidiv im Untersuchungs- zeitraum

Bei einmaligem Rezidiv ist schon zum Zeitpunkt der Diagnose des Rezidives ungefähr ein um eine Titerstufe niedriger HA-AKT-Mittelwert (1:640) gegenüber der vorhergehenden Patientengruppe festzustellen. Diese Differenz vergrößert sich auf beinahe 2 Titerstufen nach der ersten Kontrolle und beträgt nach 8 Wochen wieder nur eine Titerstufe.

Bei den IgM-AKT-Mittelwerten zeigt sich zum Zeitpunkt des Rezidives kein Unterschied zwischen beiden Patientengruppen. Auch nach 3 Wochen ist der Mittelwert von 2,5 praktisch unverändert und fällt nach etwa 8 Wochen (2. Kontrolle) auf einen Titer von 1,65 ab.

Während bei den Patienten mit häufigen Rezidiven der IgG-AKT-Mittelwert von Rezidivbeginn bis zur 2. Kontrolluntersuchung nahezu gleich bleibt, findet man bei den Patienten ohne weiteres Rezidiv im gleichen Zeitraum ein anderes Verhalten. Der Anfangswert von 2,30 (0,30 Stufen über 1:20) steigt auf 2,90 nach 3 Wochen an, um bis zur 2. Kontrolle nach 8 Wochen wieder auf den mittleren AKT von 1:20 (2,0) abzufallen. Absolut gesehen liegen diese Werte etwa eine Stufe unter dem Titerniveau der anderen Gruppe, d. h., daß bei Patienten mit häufigen Rezidiven höhere IgG-Titer vorliegen.

Sowohl HA- als auch IgM-AKT steigen bei Patienten mit häufigen Rezidiven an. Zwar findet man die höchsten absoluten Werte bei der HA-Methode, der höchste Titeranstieg wird aber durch die IgM/IFA-Methode erreicht.

Bei Patienten mit einem Rezidiv fällt der HA-Titerwert zwischen der 1. und 2. Kontrolle nicht ab, sondern bleibt gleich. Der IgM-AKT dagegen fällt um über eine Stufe.

7. Vergleich der AKT-Höhe nach Rezidiv und 8 Wochen ohne Rezidiv. (Mittelwerte)

Ausgewertet werden konnten nur E.coli-Infektionen, da nur bei diesem Erreger eine ausreichende Zahl von AKT-Bestimmungen für beide Vergleichsmöglichkeiten vorlag, während es sich bei den Enterokokken- und Klebsiellen-Infektionen bereits um erneute Rezidive, häufig nach E.coli-Infektionen handelt.

Aus der Tabelle 1 wurden die absoluten AKT-Mittelwerte der Patientengruppe entnommen, bei der bis zur 2. Kontrolluntersuchung nach im Durchschnitt 8,5 Wochen kein Rezidiv mehr aufgetreten war. Diesen Werten wurden in Abb. 4 die durchschnittlichen AKT-Werte der Patienten mit Rezidiv gegenübergestellt. Diese wurden in der Regel beim folgenden Besuch (ungefähr nach 3 Wochen) ermittelt.

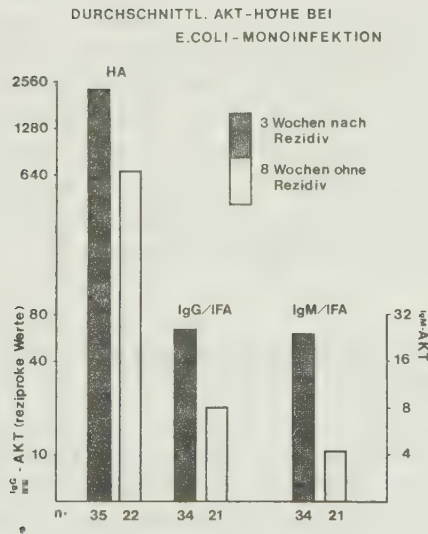


Abb. 4 Durchschnittliche AKT-Höhe bei Patienten nach Rezidiv und bei rezidivfreien Patienten

Der HA-AKT-Mittelwert erreicht bei Vorliegen einer Infektion eine Höhe von 8,85 das entspricht beinahe einem Titer von 1:2560. Dem gegenüber liegt der Wert bei mindestens 8 Wochen ohne Rezidiv etwa bei 1:640 (7,1).

Bei den beiden IgM-Durchschnittswerten läßt sich ein Anstieg von 1,65 (0,65 Stufen über 1:4) auf 3,60 (0,6 Stufen über 1:16) beobachten. Die Titeränderung umfaßt also zwei ganze Titerstufen.

Ein fast ebenso deutlicher Unterschied besteht bei den IgG-Mittelwerten. Bei rezidivfreien Patienten ergab sich ein durchschnittlicher AKT-Wert von 2,05 das entspricht einem Titer von 1:20. Bei Vorliegen einer Infektion wurde ein mittlerer Titer von 3,70 (0,7 Stufen über 1:40) errechnet.

Aus der vorliegenden Untersuchung geht klar hervor, daß bei Vorhandensein eines Rezidives die AKT-Mittelwerte alle um mindestens 1,7 Titerstufen über denen bei rezidivfreien Patienten liegen. Aber nur bei den IgM-AKT-Mittelwerten ist der Unterschied (2 Titerstufen) statistisch signifikant. (WILCOXON-Test) (48) IgM ist also am empfindlichsten.

8. Signifikante AKT-Veränderungen nach Rezidiv (alle Erreger)

Ein Titeranstieg bzw. Titerabfall ist erst statistisch signifikant, wenn eine Titerveränderung um mindestens 2 Stufen vorliegt. Unter dieser Voraussetzung wurde der AKT-Verlauf in Anstieg, Abfall und gleichbleibende Anteile unterteilt.

8.1 Titerveränderung bis zum Zeitpunkt der nächsten Überprüfung

Diese erste Überprüfung des AKT nach Auftreten der Infektion erfolgt in einem Zeitraum von 1 bis 6 Wochen. Aus HA-AKT-Verläufen bei Harnwegsinfektionen geht hervor, daß 6 Wochen nach Rezidivfeststellung der Ausgangs-

titer fast wieder erreicht ist. Es wurden deshalb nur AKT-Werte berücksichtigt, die im Zeitraum von 1 bis 5 Wochen nach Rezidiv bestimmt wurden. Dabei machen die AKT nach 5 Wochen nur einen geringen Anteil aus (4 von 37).

Bei Auswertung der AKT-Verläufe nach E.coli-, Enterokokken- und Klebsiellen-Infektion erhält man 4 Wochen nach Infektionsbeginn folgendes Ergebnis. (Abb.5) In der überwiegenden Zahl der Fälle bleiben die Antikörpertiter bei allen drei Bestimmungsmöglichkeiten gleich. Während es bei Bestimmung der IgG-AK-Titer 62 % sind, ist der Unterschied zwischen der IgM-AKT-Bestimmung mit der IFA-Technik (76 % gleichbleibend) und der HA-Methode (56 % gleichbleibend) sehr deutlich. Ein Anstieg wurde bei den HA-AKT in 29 % der Fälle registriert, während es bei den IgM/IFA-AKT nur 17 % sind, die signifikant anstiegen. Dagegen liegen bei Letzteren die gleichzeitig vorhandenen Titerabfälle mit nur 9 % weit unter denen der HA-Titer, die immerhin einen Wert von 15 % erreichen. Bei den IgG/IFA-Antikörpertitern liegen die Anstiege (22 %) und Abfälle (17%) ziemlich nah beieinander.

8.2 Titerveränderung bis zum Zeitpunkt einer zweiten Überprüfung

In dieser Untersuchung wurde die AKT-Veränderung bestimmt nach durchschnittlich weiteren 6 Wochen, so daß ab Beginn der Infektion (Rezidiv) mindestens 8 Wochen, durchschnittlich aber 10 Wochen vergangen sind.

Gegenüber der 1. Titerüberprüfung (nach 4 Wochen), waren wieder weit über die Hälfte aller Titerwerte (70 %) gleich geblieben. Während aber immerhin 30 % der HA-AKT-Werte in diesem Zeitraum abgefallen sind, sind es bei IgM/IFA nur 22 % mit signifikantem Abfall. Der niederste Wert mit 12 % wurde bei Auswertung der IgG-AK-Titerwerte gefunden. Hier wurde auch im gleichen Zeitraum bei 17 % der Titerbestimmungen ein AKT-Anstieg beobachtet.

Auffällig ist, daß in dem Zeitraum von etwa 4. bis 10. Woche bei den mit der IFA-Methode bestimmten IgM-AKT in keinem einzigen Fall ein signifikanter Titeranstieg zu verzeichnen war, sondern neben 78 % gleichbleibenden Titern sogar 22 % Titerabfälle errechnet werden konnten.

Dagegen wurde bei den AKT, die mit der HA-Methode bestimmt wurden, im gleichen Zeitraum und bei Verwendung desselben Krankengutes in 20% der Fälle ein Titeranstieg festgestellt, dem ein Titerabfall von allerdings 30 % gegenübersteht.

8.3 Verhalten gegenüber dem Ausgangswert

bei Patienten mit und ohne Rezidiv

Bei der ersten Patientengruppe sind bis zur Titerfeststellung nach durchschnittlich 10 Wochen ein oder mehrere Rezidive zusätzlich aufgetreten. Dagegen mußte bei der anderen Gruppe ein rezidivfreies Intervall von mindestens 8 Wochen vorliegen. (Abb.5) Diese letzte Gruppe zeigte folgende Titerbewegungen gegenüber dem Titer zu Beginn der Primärinfektion: Nach 10 Wochen waren 36 % der IgG-Werte angestiegen, abgefallen ist der Wert nur in einem einzigen Fall. Auch hier blieben wieder über die Hälfte der Werte (57 %) gleich.

Von den IgM-AKT waren 64 % auf Höhe des Ausgangswertes geblieben, die restlichen 36 % fielen ab, so daß auffällt, daß kein IgM-AKT-Anstieg vorkam.

Bei den HA-Titern dagegen halten sich Anstieg (21 %) und Abfall (21 %) die Waage. Die Mehrheit der Werte (58 %) bleibt auf der gleichen Titerstufe.

Nach einem rezidivfreien Intervall von 10 Wochen fällt auf, daß eine deutliche Zahl von AKT (IgG) (36%) angestiegen ist, daß dieselbe Zahl von IgM-AKT (36 %) abgefallen ist und daß die HA-Titerwerte mit 21 % Anstiege und Abfälle kein differenziertes Verhalten zeigen.

Bei der Patientengruppe mit Rezidiven sind die IgG-Anstiege und -Abfälle mit je 25 % gleich, die restlichen 50 % der Werte sind unverändert gegenüber der Ausgangstiterstufe.

Während bei der rezidivfreien Gruppe kein Fall mit einem signifikanten IgM-Anstieg aufgetreten war, findet sich hier in 33 % der Fälle ein solches Verhalten. Dagegen wurde nur bei einem Fall ein Titerabfall

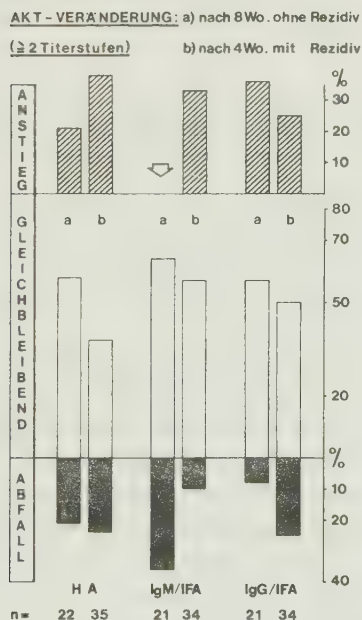


Abb. 5 AKT-Veränderung gegenüber dem Ausgangstiter bei Rezidivpatienten und bei Patienten mit mindestens 8 Wochen ohne Rezidiv (alle Erreger)

registriert. Aber auch bei den Rezidivpatienten ist wieder die Mehrheit der AKT (57 %) gleichbleibend. Ebenfalls eine Zunahme der AKT mit signifikantem Anstieg sieht man bei den HA-Titern, wo 21 % bei Patienten ohne Rezidiv auf 38 % bei dieser Gruppe anstiegen. Die Titerabfälle bleiben mit 24 % nahezu gleich. Die gleichbleibenden Titerwerte nehmen zu Gunsten der Titeranstiege von 58 % auf 38 % ab. Bei dieser Patientengruppe ist eine deutliche Zunahme sowohl der IgM- als auch der HA-AKT-Anstiege (um 33 % bzw. 17 %) auffallend. Nicht zu übersehen sind aber auch die 20 % Titerabfälle bei der HA während es bei IgM nur 4 % sind.

9. AKT-Veränderungen bei Vorliegen einer E.coli-Infektion

Da die E.coli-Stämme 83 % der Rezidive bei dem hier verwendeten Patientengut verursacht haben, brachten die Ergebnisse allein dieser Erregerart keine wesentlichen Veränderungen gegenüber der vorausgehenden Untersuchung.

9.1 AKT-Veränderungen bis zum Zeitpunkt der 1.Kontrolle
Die Zahl der gleichbleibenden IgG-Titerwerte nimmt auf 54 % ab. Dies führt sowohl zu einer Zunahme der Titeranstiege auf 26 % und der Titerabfälle auf 20 %.

Bei IgM/IFA bleibt die Zahl der gleichbleibenden Werte (71 %) und absinkenden Werte (8 %) nahezu gleich. Dagegen stiegen 21 % der AKT jetzt an im Vergleich zu 17% der vorhergehenden Untersuchung.

Bei den HA-AKT blieb die Zahl der Anstiege mit 29 % gleich. Die Abnahme der gleichbleibenden Titerwerte um 5 % führte zu einer Zunahme der Titerabfälle um diesen Prozentsatz.

9.2 AKT-Veränderungen bis zum Zeitpunkt der 2. Kontrolle

Das Ergebnis der IgG-AKT-Titerveränderung bei E.Coli-Rezidiv unterscheidet sich praktisch nicht vom Ergebnis bei Einbeziehung aller Erreger. Einem Titeranstieg in 30 % der Fälle und Titerabfall bei 18 % stehen 52 % gleichbleibende Werte gegenüber. Auch bei dem IgM-Verhalten tritt keine wesentliche Veränderung auf. (Anstieg: 16 %, Abfall: 12 %, gleichbleibend: 72 %).

Die unveränderten HA-AKT-Werte stimmen nahezu überein mit denen bei Berücksichtigung auch der übrigen Erreger (64 zu 66 %). Bei Anstieg und Abfall kehrt sich das Verhältnis um. Während vorher 21 % Anstiege errechnet wurden, ist diese Zahl auf 15 % zurückgegangen. Dagegen ist die Zahl der abfallenden AKT von 15 % auf 19 % angestiegen.

9.3 AKT-Veränderungen bis zum Zeitpunkt der 2. Kontrolle (nach 10 Wochen) im Vergleich zur 1. Kontrolle (nach 4 Wochen)

Es blieben 78 % aller IgG-AKT-Werte auf der gleichen Höhe, während je 11 % anstiegen und abfielen.

Wie schon bei der vorhergehenden Untersuchung ist auch bei E.coli-Infektion in diesem Zeitraum kein einziger Anstieg der IgM-AKT zu finden. Das übrige IgM-Verhalten ändert sich in der Weise, daß die Zunahme der gleichbleibenden Titerwerte um 6 % auf 84% zu einer gleichzeitigen Abnahme der abfallenden AKT-Werte von 22 % auf 16 % führt.

Beim Ergebnis der HA-AKT bei E.coli-Infektion fällt auf, daß die Zahl der Titerabfälle von der 4. bis zur 10. Woche auf 35 % (gegenüber 30 %) zunimmt und die Titeranstiege auf 15 % (gegenüber 20 %) zurückgehen. Die Zahl der unveränderten Titerwerte bleibt konstant. (50%)

10. AKT-Gesamtverläufe der HA-, IgG- und IgM-AK-Werte bei Auswertung von 35 E.coli-Rezidiven (Abb. 6)

Die PN-Kinder hatten entweder ein oder aber mehrere Rezidive hintereinander. In dieser Untersuchung sind vor allem auch all die Kinder einbezogen, bei denen im Rahmen der 2. Untersuchungsperiode eine wöchentliche Kontrolle stattfand. Als Ausgangswert wurde der Antikörpertiter am Tag des Rezidivs gewählt. Es wurden nun die Titerveränderungen aller nachfolgenden AKT gegenüber diesem Ausgangswert registriert und dann alle Änderungen mit demselben Bestimmungsdatum gemittelt.

10.1 IgG/IFA-Verlauf

Nach dem Beginn der Infektion kommt es innerhalb der ersten Woche zu keiner Titerveränderung. Der AKT-Verlauf setzt sich in einem steilen Anstieg (etwa um eine Titerstufe) in der 2. und 3. Woche fort. Er durchläuft während des folgenden Abfalls nach 5 Wochen die Null-Linie, nach 7 Wochen ist ein Tiefpunkt erreicht, der im negativen Bereich liegt und etwa eine halbe Stufe unterhalb des Ausgangswertes liegt. Nach 8 Wochen steigt die Kurve auf den 0-Wert an und zeigt im weiteren Verlauf keine wesentlichen Abweichungen von der Ausgangsgeraden.

Die signifikanten Titerbewegungen fanden in der 1. bis 7. Woche statt. Nach 3 Wochen tritt die stärkste positive IgG-AKT-Veränderung auf, was wohl auf eine starke Produktion von IgG-Immunglobulinen hinweist. Nach weiteren 2 1/2 Wochen ist der Ausgangstiter wieder erreicht.

10.2 IgM/IFA-Verlauf

Von Anfang an setzt ein steiler Titeranstieg ein, der nach 2 Wochen bereits 1 Titerstufe erreicht hat und nach 3 Wochen eine maximale Titerveränderung von 1,75 Stufen aufweist. Innerhalb einer Woche reduziert sich diese maximale AKT-Veränderung auf etwa die Hälfte (0,8), woraus man entnehmen kann, daß in dieser einen Woche etwa die Hälfte der IgM-AK verschwunden ist.

AKT-VERLAUF BEI E.COLI-MONO-INFEKTION

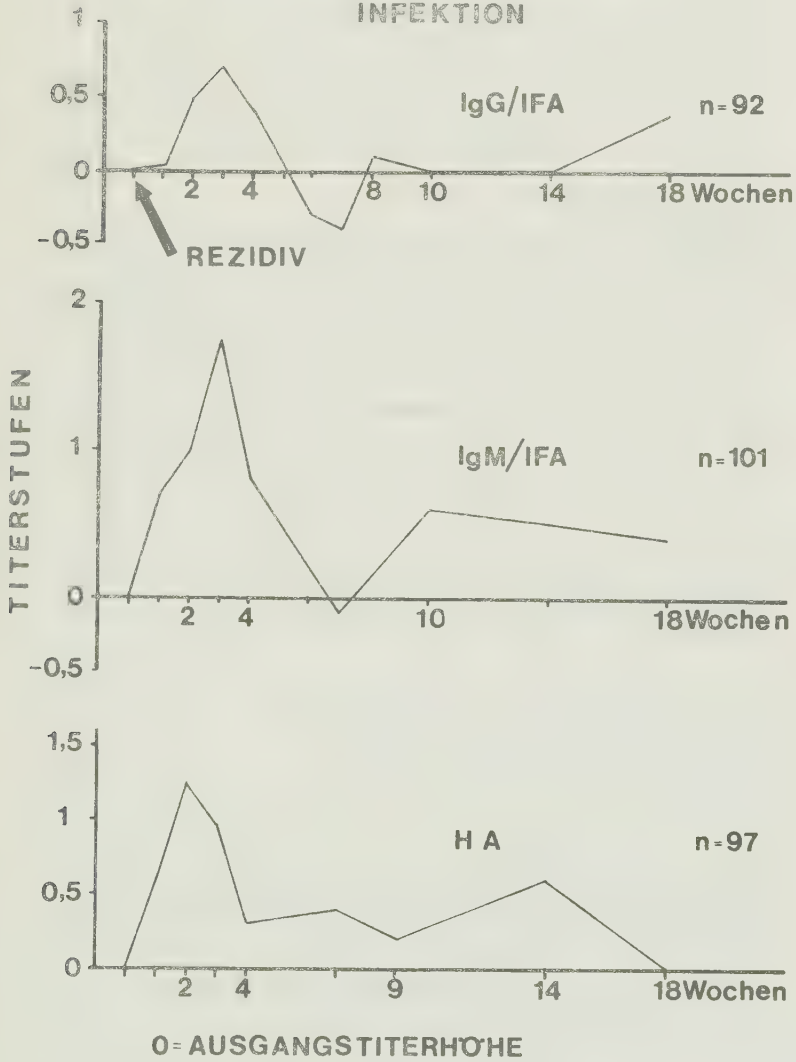


Abb. 6 AKT-Gesamtverläufe bei
E.coli-Monoinfektion

Nach weiteren 2 1/2 Wochen ist der Ausgangswert wieder erreicht, was einen konstanten Abbau der IgM-AK bei einer Halbwertszeit von ungefähr einer Woche unterstreichen würde. Der ab der 8. Woche folgende IgM-Titeranstieg um eine halbe Stufe ist vermutlich auf die IgM-Produktion weiterer Rezidive zurückzuführen, die in die Bestimmung der homologen AKT mit hinein projiziert wird.

10.3 HA-Verlauf

Wie schon beim vorhergehenden IgM-Verlauf fällt auch hier der deutliche Anstieg der Titer um 1,25 Stufen zwischen der ersten und zweiten Woche auf. Während nun aber nach dem IgM-Verlauf die IgM-AK-Produktion bis zur 3. Woche weiter zunimmt, fällt der AKT bei der HA-Methode bis zu diesem Zeitpunkt um 0,35 Stufen ab. Es schließt sich ein steilerer Abfall bis zur 4. Woche an. Nach 9 Wochen ist dann der tiefste Wert mit 0,2 Stufen über dem Anfangstiter erreicht. Der folgende schwache Anstieg mit nachfolgendem Abfall bis zur 18. Woche läßt auf das zusätzliche Auftreten weiterer Rezidive schließen.

11. AKT-Gesamtverläufe bei Auswertung von 8 Enterokokken-Rezidiven (Abb. 7)

Da die Enterokokken-Rezidive ausschließlich aus der ersten Untersuchungsreihe stammen, fehlt hier eine wöchentliche Überprüfung des AKT. Die Kinder kamen zur 1. Kontrolle nach Rezidiv in wenigen Fällen bereits nach 2 Wochen, häufig jedoch erst nach 3 - 4 Wochen.

11.1 IgG/IFA-Verlauf

Bis zur 1. Kontrolle nach 4 Wochen wird ein höchster Titerwert von 0,75 Stufen über dem Ausgangstiter erreicht. Dieser fällt bis zur 8. Woche wieder auf den Ausgangstiter ab und unterschreitet diesen Wert bis zur 12. Woche.

AKT-VERLAUF BEI ENTEROKOKKEN- INFEKTION

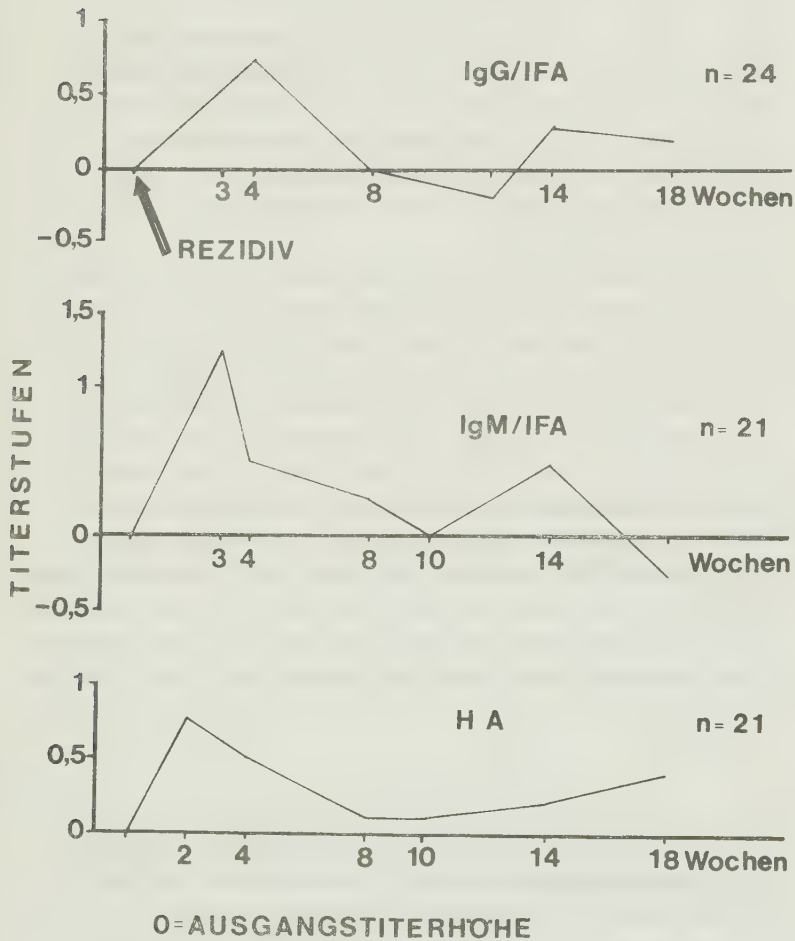


Abb. 7 AKT-Gesamtverläufe bei
Enterokokken-Monoinfektion

Es setzt eine erneute Aufwärtsbewegung der Titerkurve ein, die in der 13. Woche die Null-Linie überschreitet und dann bis zur 18. Woche langsam ausläuft.

11.2 IgM/IFA-Verlauf

Der Titerverlauf beginnt mit einem steilen Anstieg bis zur 3. Woche (1,25 Stufen über 0). Der anschließende Abfall teilt sich in einen steileren Anteil, der nach der 4. Woche erreicht ist und einen flacheren Teil, der in der 10. Woche die Null-Linie erreicht. Ein weiterer nicht so ausgeprägter Titeranstieg mit Abfall deutet auf ein erneutes Rezidiv hin.

11.3 HA-Verlauf

Nach 2 Wochen erreicht die Kurve 0,75 Titerstufen über dem Ausgangswert. Sie fällt dann kontinuierlich bis zur 8. Woche fast auf die Null-Linie ab, verläuft bis zur 14. Woche praktisch parallel zu dieser Linie und endet mit einem unbedeutenden Anstieg in der 18. Woche.

Vergleicht man die AKT-Verläufe von E.coli- und Enterokokken-Rezidiven, so fällt auf, daß bei wöchentlicher Kontrolle, wie sie bei den Coli-Rezidiven innerhalb der ersten Wochen nach Rezidiv stattgefunden hat, deutlichere Titeranstiege bzw. Titerabfälle aufgetreten sind. Insgesamt sind 20 der 26 AKT bei E.coli-Rezidiven bis zur 1. Kontrolle angestiegen. Bei den Enterokokken-Infektionen zeigen 5 von 8 AKT einen deutlichen Anstieg, allerdings konnte hier nicht wöchentlich kontrolliert werden.

12. IgG-, IgM- und HA-AKT-Verläufe bei Patienten ohne weitere Rezidive verglichen mit Patienten mit häufigen E.coli-Rezidiven (Abb. 8)

12.1 Patienten mit häufigen Rezidiven

12.1.1 IgG/IFA-Verlauf

Er ist gekennzeichnet durch einen langsamen Anstieg innerhalb der ersten 7 Wochen nach Rezidiv auf 0,7 Stufen. Aber bereits 2 Wochen später ist der Aus-

gangspunkt wieder erreicht und fällt sogar mit - 0,2 unter den Anfangstiter ab. Aus dieser Talsohle tritt die Kurve nach etwa 14 Wochen heraus und steigt bis zur 18. Woche weiter leicht an.

12.1.2 IgM/IFA-Verlauf

Erst nach 3 Wochen ist ein maximaler Titeranstieg von 0,8 Stufen vorhanden, der aber schon bis zur 5. Woche wieder auf den Ausgangstiter zurückfällt und seine Abwärtsbewegung bis zu einem Wert von 0,8 Titerstufen unter dem Ausgangstiter fortsetzt. (nach 7 Wochen)

Bis zur 10. Woche steigt der Titer steil auf + 1 Stufe an. Diese Aufwärtsbewegung setzt sich bis zu 2 Stufen über dem Ausgangswert nach 18 Wochen fort.

12.1.3 HA-Verlauf

Nach 1 1/2 Wochen wird die größte Titerveränderung von 1,5 Stufen registriert. Dieser Wert fällt nun sehr langsam ab. Nach 7 Wochen ist erst der Wert 0,8 über Null erreicht. Es schließt sich ein steiler Abfall an, wobei der Kurvenverlauf in der 8. Woche die 0-Linie überschreitet und bis zu - 0,5 Stufen nach 10 Wochen absinkt. Es folgt ein Anstieg auf 1 Titerstufe über dem Anfangstiter um die 14. Woche. Nach 18 Wochen ist der Ausgangswert erreicht.

12.2 Patienten ohne weitere Rezidive

12.2.1 IgG/IFA-Verlauf

Die Kurve bewegt sich während des vorgegebenen Untersuchungszeitraumes immer im Bereich positiver Titerveränderungen. Dabei ist der Ausgangspunkt (Tag des Rezidivs) der niederste Wert des Gesamtverlaufes. Von hier aus erreicht die Titerveränderung nach 1 Woche + 0,6 Stufen und bleibt bis zur 4. Woche etwa auf dieser Höhe. Die Kurve fällt bis zur 7. Woche auf + 0,2 Stufen ab und

AKT-VERLAUF BEI E.COLI-MONOINFEKTION

— ohne weiteres Rezidiv

— mit mehreren Rezidiven

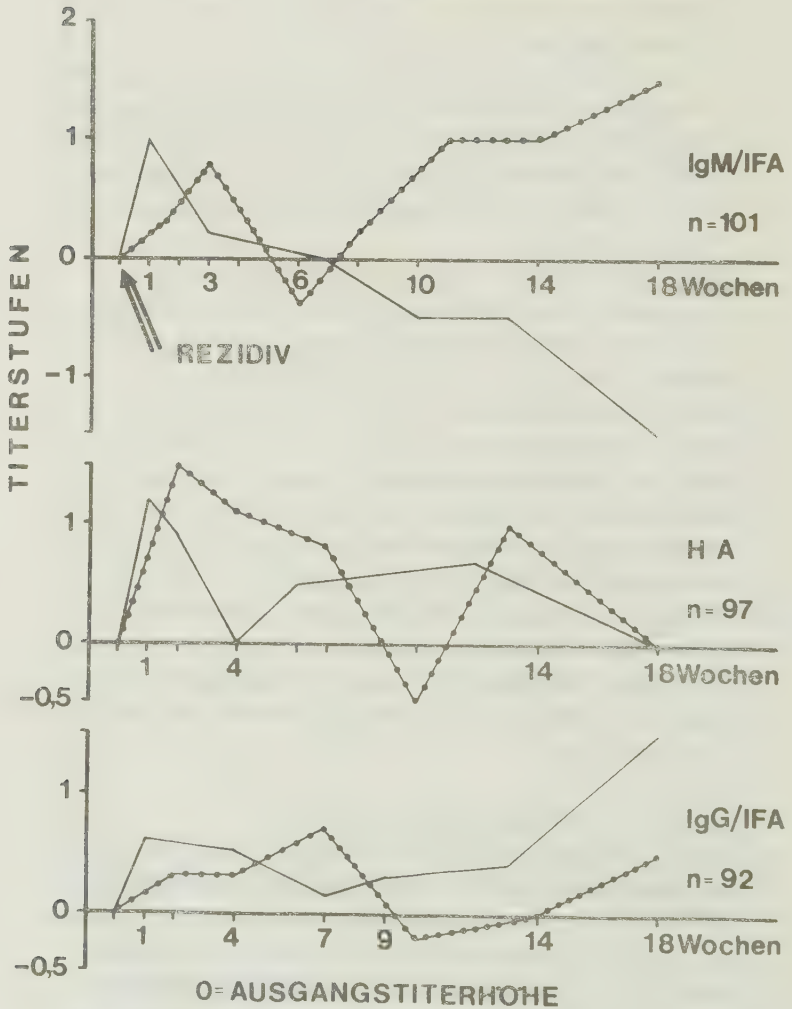


Abb. 8 AKT-Verläufe bei E.coli-Monoinfektion

steigt erneut bis zur 18. Woche auf 1,5 Titerstufen über den Ausgangspunkt an.

12.2.2 IgM/IFA-Verlauf

Die größte Titeränderung, bezogen auf den Ausgangstiter ist schon nach 1,5 Wochen manifest. Sie beträgt 1 Titerstufe. Von nun an folgt ein stetiger Abfall, der nach 7 Wochen die Null-Linie überschreitet und sich dann im Bereich negativer Titerveränderungen bis zu einem Wert von - 1,5 Titerstufen fortsetzt, wobei die Steilheit der Abnahmen graduell von Zeitpunkt zu Zeitpunkt differiert. Geht man vom maximalen Anstieg von + 1 Titerstufe aus, so beträgt der Gesamt-titerabfall etwa 2,5 Stufen.

12.2.3 HA-Verlauf

Bereits nach einer Woche ist die Titerveränderung mit 1,2 Stufen am größten. Der folgende Abfall erreicht nach 4 Wochen wieder die 0-Linie. Die Kurve setzt sich nun aber nicht im Bereich negativer Titerveränderungen (im Vergleich zu IgM) fort, sondern steigt zwischen 5. und 6. Woche auf eine halbe Titerstufe über dem Ausgangswert an und bleibt bis zur 12. Woche nahezu konstant. Bis zur 18. Woche ist der Ausgangstiter wieder erreicht.

13. Beziehung zwischen IgM- und HA-Verlauf bei E.coli-Rezidiven unter Berücksichtigung des IgG-AK-Verhaltens

Die AKT-Mittelwerte der über einen Zeitraum von 18 Wochen beobachteten Patienten wurden zwar gegen den homologen Stamm, der zu Beginn isoliert wurde, bestimmt, trotzdem muß darauf hingewiesen werden, daß über die gesamte Untersuchungsdauer weitere Rezidive aufgetreten waren, so daß nur etwa die erste Hälfte des Verlaufes das akute Geschehen wiedergibt.

Der IgM-Verlauf ist gekennzeichnet durch einen Anstieg

um 1 Titerstufe nach 1 - 2 Wochen, einem schnellen Abfall, der nach 5 Wochen den Ausgangswert wieder erreicht und anschließend allmählich bis zur 18. Woche erneut ansteigt. Der akute Schub des Rezidives scheint also nach 5 Wochen mit Erreichen des Ausgangswertes bereits abgeschlossen zu sein. Anders verhält es sich bei der HA-Kurve. Bei Verwendung desselben Patientengutes wird hier zwar auch nach ein bis zwei Wochen ein steiler Titeranstieg (1,5 Stufen) beobachtet, auffallend ist aber ein "Plateautiter", d. h. der Titer fällt bis zur 7. Woche nur unwesentlich ab. Der Ausgangswert wird bei dieser Titerkurve erst nach 9 Wochen erreicht.

Da bei Bestimmung der IgM-AK nur diese Immunglobuline bestimmt werden, läßt sich der Titeranstieg und der anschließende -abfall als Folge einer direkten Infektion beschreiben. Die Titerveränderungen sind also auf eine verstärkte IgM-Produktion und anschließendem Verschwinden dieser Antikörper zurückzuführen.

Bei der HA-Kurve scheint allerdings aufgrund des verzögerten Abfalls mit Erreichen der O-Linie erst nach 9 Wochen, eine Beeinflussung des Verlaufes durch die IgG-AK mitzuspielen. Einen Hinweis auf den Einfluß der IgG-AK gibt auch der IgG-Anstieg, der zur gleichen Zeit auftritt, zu der bei HA der Plateautiter andauert. Der HA-Verlauf zeigt anfänglich im wesentlichen den IgM-Anstieg an. Ein vermehrtes Auftreten von IgM-AK läßt sich deshalb am besten mit der Indirekten Immunfluoreszenzmethode darstellen, weil damit auch der Titerabfall exakt registriert wird. Ein akuter Schub eines Rezidives ist so in seiner Gesamtheit darstellbar. Allerdings haben die absolut gesehen niederen Titerwerte der IFA-Methode den Nachteil, daß im Bereich bis zu einer Verdünnung von 1 : 5 teilweise widersprüchliche Ergebnisse zu erwarten sind. Dagegen zeigt die Indirekte Hämagglutinationstechnik mit absoluten Mittelwerten um 1:1280 eine wesentlich höhere Empfindlichkeit.

IV. DISKUSSION

Die Bestimmung der AKT bei Patienten mit chronischer Pyelonephritis wurde in vorangegangenen Veröffentlichungen fast ausschließlich mit der Indirekten Hämagglutination durchgeführt. Vorteil dieser Methode ist ihre relative Empfindlichkeit gegenüber PN-Erregern. Auch bei eigenen Untersuchungen wurde aus 215 Antikörpertitern (AKT) ein Titermittelwert von 7,84 errechnet. Dies würde einem Titer zwischen 1:640 und 1:1280 entsprechen. (Abb. 2) Im gleichen Titerbereich bewegen sich die AKT, die zu Beginn eines Rezidives bestimmt wurden (7,2). (Abb. 3) Die Titer, die mit der HA bei Kontrollgruppen (ohne Infektion) gefunden wurden, liegen zwischen 1:64 und 1:128. (56) Bei Vorliegen einer Infektion liegen die Werte etwa 3 Titerstufen höher. Während TIETGEN (58) bei chronischen Pyelonephritiden keinen Wert über 1:1024 feststellen konnte, findet STROHM (56) bei Vorliegen einer signifikanten Keimzahl einen Titermittelwert von 9,60. Er würde somit zwischen 1:512 und 1:1024 liegen und mit unseren eigenen Ergebnissen übereinstimmen. Im einzelnen wurden von uns Titer zwischen 1:160 und 1:10240 bestimmt. Diese Werte gelten bei Verwendung des homologen Stammes. Während die Indirekte Hämagglutination hauptsächlich gegenüber IgM-Antikörpern empfindlich ist und deshalb kein exaktes Bild gleichzeitig vorhandener IgG-Antikörper wieder spiegelt (23) ist es mit der von COONS entwickelten Indirekten Immunfluoreszenzmethode (IFA) (15) möglich, gleichzeitig sowohl die IgM- als auch die IgG-Antikörper zu bestimmen.

Schwierig ist die Beurteilung der IFA-Werte, da vergleichbare Ergebnisse von an PN erkrankten Patienten fehlen. Nach Auswertung von 232 AKT errechnet sich für IgG/IFA ein Titermittelwert von 2,82. Dieser würde damit knapp unter der Titerstufe 1:40 liegen. Der IgM/IFA-Titermittelwert beträgt 2,68 (0,68 Stufen über 1:8). (Abb. 2)

Berücksichtigt man nur die AKT zu Beginn eines Rezidives, so weichen die Ergebnisse, wie auch bereits bei den HA-AKT, kaum von den vorgenannten Werten ab. (Abb. 3) IFA-AKT, wie sie in Abb. 3 dargestellt sind, (AKT nach Rezidiv) unterscheiden sich nur unwesentlich von Titerbestimmungen natürlicher Antikörper (ohne akute Infektion) gegen E.coli-Stämme. (13) Außerdem wurden solch niedere Werte nur noch bei Vorliegen einer Cytomegalievirus-Infektion bei Neugeborenen gefunden. Die IgG/IFA-AKT lagen hier zwischen 1:16 und 1:64 (20). Wesentlich höhere IgM/IFA-Titer wurden bei neonataler Syphilis (1:1280) festgestellt. (50) Im Bereich von 1:10 bis 1:160 lagen IgM-Werte bei congenitaler Toxoplasmose. (46) An Syphilis erkrankte Erwachsene hatten einen IgM/IFA-Titer von 1:5 bis 1:320. (26) Weit höhere Werte ergaben sich bei Toxoplasmoseinfektionen Erwachsener. (Bis 1:16000) (10) Aus allen diesen Werten geht hervor, daß mit dem IFA-Test für verschiedene Infektionen und Altersgruppen zum Teil sehr unterschiedliche AKT bestimm. wurden. Die niederen IgM-AKT-Werte bei Neugeborenen lassen sich teilweise auf die schwache Reaktion ihres Immunsystems aufgrund mangelnder Präsensibilisierung zurückführen. Es können nur die IgM-AK, die unmittelbar als Antwort auf eine Infektion gebildet werden, erfasst werden. Auffallend bei unseren an chron. PN erkrankten Kindern ist, daß sie ebenfalls sehr niedere IgM-Titerwerte aufweisen. Dies dürfte im wesentlichen auf ein bei chron. PN zu Gunsten der IgG-AK verschobenes Verhältnis der Immunglobuline zurückzuführen sein. Dafür spricht auch ein Titergefälle von IgG/IFA (1:40) zu IgM/IFA (1:10). Daß dieser Unterschied nicht auf eine verschiedenartige Empfindlichkeit der IFA-Methode gegenüber beiden Antikörperarten beruht, bestätigt COHEN (13) bei der Bestimmung natürlicher AK gegen N. Gonorrhoe. Er stellt fest, daß dieser Test beide Immunglobuline gleich gut mißt.

Vergleicht man den IgM/IFA- und HA-AKT-Mittelwert, so stellt sich heraus, daß die absoluten AKT-Werte bei HA weit über denen der IgM/IFA liegen und damit eine erheblich größere Abstufungsbreite unter Einschluß auch geringer Titeranstiege aufweisen. Dieses Ergebnis ist insofern interessant als BIEGELEISEN (9) bei der Bestimmung von Brucella-Antikörpern in menschlichem Serum ebenfalls beide Methoden verwendet. Auch er findet wesentlich höhere AKT bei der HA-Methode, betont aber gleichzeitig, daß die Spezifität der Immunfluoreszenz gleich groß ist wie bei der Hämagglutination.

Während ein einzelner HA-Titer nur von begrenztem Wert ist, weist ein signifikanter Anstieg (2 Werte) eindeutig auf eine Infektion hin. (49) Auch andere Autoren sind der Ansicht, daß nur die Titerbewegung in Form des Titerverlaufes Aussagekraft besitzt.

Bei Vergleich der HA-, IgG- und IgM-AKT, 3 und 8 Wochen nach Infektion, wurden gegenüber dem AKT am Tag der Rezidivfeststellung keine wesentlichen Titeränderungen festgestellt. Dies würde mit Ergebnissen von KIENITZ übereinstimmen, der unter Verwendung der HA nur geringe Titer-schwankungen oberhalb den Normalwerten bei chronischen Pyelonephritiden fand. (28)

Sicherlich ist jedoch der große Abstand der AKT-Kontrollen (3 und 8 Wochen) für relativ geringe Titterschwankungen mit verantwortlich zu machen. Sehr deutlich wird dies bei Betrachtung der AKT-Gesamtverläufe in Abb. 6 und 8, wo die Kinder der zweiten Untersuchungsperiode (wöchentliche Kontrolle) mit einbezogen sind. Man findet relativ starke Titerveränderungen vor allem in den ersten Wochen.

Dessere Ergebnisse werden erzielt, wenn man die Patienten in eine Gruppe mit häufigen Rezidiven und eine Gruppe mit einmaligem Rezidiv aufteilt. (Tab. 1)

Eine deutlichere Titerbewegung nach oben (3. Woche) als auch nach unten (8. Woche) kann man sowohl bei HA- als auch bei IgM-AKT-Mittelwerten bei den Patienten mit häufigen Rezidiven feststellen. Der mittlere IgG-AKT liegt

konstant 1 Titerstufe über den Werten bei Rezidivfreiheit. Bei den Patienten ohne weiteres Rezidiv ist 8 Wochen nach Rezidivfeststellung der HA-Mittelwert unverändert gegenüber dem Ausgangswert. Der IgM-Mittelwert fällt dagegen nach 8 Wochen deutlich ab (von 3,0 auf 1,65). Die höchsten Werte (absolut) fanden sich bei HA-, IgM-, und IgG-AKT nach 3 Wochen bei Rezidivpatienten.

Die niedersten Titermittelwerte finden sich bei den Patienten die mindestens 8 Wochen kein Rezidiv mehr hatten. Die Titerunterschiede zwischen 3 Wochen nach Rezidiv und 8 Wochen ohne Rezidiv lassen sich aus Tabelle 2 ablesen. Sie betragen für die HA-AKT 1,75, für IgM 2,0 und für IgG 1,65 Titerstufen.

Bei Vorliegen eines Rezidivs ist so ein deutlicher Titeranstieg (absolute Höhe) gegenüber rezidivfreien Patienten feststellbar. Statistisch signifikant (48) ist er aber nur bei IgM. Die IgM/IFA-Bestimmung ist somit am spezifischsten, obwohl die absoluten Werte relativ niedrig sind.

Bei Berechnung der bisherigen AKT-Mittelwerte waren alle Titeränderungen mit einbezogen. In Abb. 4 wurden nur signifikante Titerveränderungen berücksichtigt, d. h. der AK-Titer mußte um mindestens 2 Titerstufen angestiegen oder abgefallen sein.

Unter dieser Voraussetzung blieb der überwiegende Teil aller AKT gleich (über 50 %).

Bei Vergleich der AKT von 10. Woche mit denen der 3. Woche nach Infektion ist auffallend, daß bei den HA-AKT 30 % Abfällen, 20 % Anstiege gegenüber stehen. Die IgM-AKT-Abfälle liegen mit 22 % zwar unter dem HA-Wert, es wurde aber kein einziger Anstieg registriert. Auch hier scheint sich eine größere Spezifität der IgM/IFA-Methode zu bestätigen.

Diese Aussage wird auch von der folgenden Gegenüberstellung untermauert: (Abb. 4)

Nach Rezidiv (AKT bestimmt durchschnittlich 3 Wochen nach Rezidiv) werden die höchsten Titeranstiege mit 38 % bei

den HA-AKT und 33 % bei den IgM-AKT registriert. Während aber bei IgM/IFA nur ein einziger Titerabfall festzustellen ist, sind es bei den HA-AKT-Werten 24 %, die gleichzeitig abfallen.

War mindestens 8 Wochen keine signifikante Keimzahl nachweisbar, so gab es bei den IgM-AKT außer einem Anstieg nur Titerabfälle (36%). Bei der HA-Methode hielten sich Titeranstiege und -abfälle mit je 21 % die Waage.

Betrachtet man das IgG-Verhalten unter der gleichen Voraussetzung (Titerveränderung um ≥ 2 Stufen) so überwiegen bei rezidivfreien Patienten zwar die Anstiege, es kann aber auf Grund der IgG-Bestimmungen keine Aussage über das Vorhandensein eines Rezidivs gemacht werden.

Welche Schlüsse kann man aus den Gesamtverläufen im Hinblick auf die vorhandenen Immunglobuline bei chronischen Pyelonephritiden ziehen?

Daß die IgM-Antikörper primär als Antwort auf eine Infektion produziert werden, wird durch den hohen Grad der Übereinstimmung (75 - 88 %) zwischen einem hohen IgM-Anstieg und verschiedenen Infektionen bei Neugeborenen und Kleinkindern von KHAN et al. (27) bestätigt.

Auch Untersuchungen über agglutinierende AK gegen das O-Antigen von E.coli-Stämmen, die eine akute PN verursachen, bestätigen die dominierende Rolle der IgM-AK bei Erstinfektionen.

Ursprünglich wurde angenommen, daß die IgM-AK als einzige Antikörper gegen enterobakterielles O-Antigen gebildet werden. (21) Untersuchungen von HANSON et al. (21, 22) machten es wahrscheinlich, daß zwar hauptsächlich IgM, aber auch andere Antikörper vorhanden sind.

IgG-AK fand er nur bei 5 von 20 Fällen bei Erstinfektion von PN-Kindern. Bei Patienten mit Rezidiven waren diese AK in allen 13 Fällen nachweisbar. Es ist bei chronischen Pyelonephritiden das AK-Verhältnis zu Gunsten der IgG-AK verschoben. (25)

Hohe IgG-AKT findet man bei besonders schwerwiegenden Fällen von chronischer PN (23), und eine Beziehung zwischen Schwere des Krankheitsprozesses und IgG-AK-Antwort wird für möglich gehalten.

Unsere eigenen AKT-Bestimmungen wurden alle bei Patienten mit chronischer nicht obstruktiver PN durchgeführt. Die von TIETGEN (58), KIENITZ (28) und WILLIAMSON (62) gemachten Erfahrungen können bei Vergleich mit unserem HA- und IgM/IFA-Verlauf nicht bestätigt werden. Beide Verläufe zeigen als Folge eines akuten Schubes 2 Wochen nach E.coli-Rezidiv einen deutlichen Titeranstieg um 1,5 Titerstufen. (Abb. 6) Während nun aber die HA-Kurve wieder leicht abfällt steigt die "reine" IgM/IFA-Kurve auf 1,75 Titerstufen über dem Ausgangswert weiter an. Sie kehrt schon nach 7 Wochen auf den Ausgangswert zurück. Bei der Hämagglutinationskurve wird ein gewisser Tiefpunkt nach 9 Wochen erreicht, der aber noch geringfügig über dem Ausgangstiter liegt. Ähnliche Werte für die HA-Kurve fand ANDERSEN bei akuten PN (1,4).

Ein akuter Schub auch einer chron. PN ist eindeutig an Hand des Titeranstiegs festzustellen. Besonders deutlich wird dies auch hier wieder am IgM-Verlauf. Aber auch IgG steigt nach einem akuten Schub an.

Ähnliche Ergebnisse findet man auch bei Vorliegen eines Enterokokken-Rezidives. Allerdings sind hier die Titerveränderungen bei IgM und HA weniger ausgeprägt, dagegen liegt der IgG-Anstieg bis zur 4. Woche über dem Wert bei E.coli.

Alle wesentlichen Titerbewegungen finden in den ersten 10 Wochen eines Rezidives statt. Um vor allem in den ersten Wochen diese Titerbewegung verfolgen zu können, muß eine wöchentliche Kontrolle des AKT durchgeführt werden. Titerbewegungen nach der 10. Woche können sicher nicht auf den Einfluß des Rezidives am Beginn der Untersuchung zurückgeführt werden, sondern stehen vermutlich in Zusammenhang mit weiteren Rezidiven. Dies zeigt sich deutlich in Abb.8, in der der IgM-Verlauf sowohl bei Patienten mit mehreren E.coli-Rezidiven als auch bei Patienten mit E.coli-Rezidiv

nur zu Beginn der Beobachtungszeit und anschließender Rezidivfreiheit aufgezeichnet wurde.

Die IgM/IFA-Kurve bei Patienten ohne weiteres Rezidiv, fällt nach Erreichen des Gipfels (nach 1,5 Wochen) kontinuierlich bis zur 18. Woche ab. Bei den Patienten mit häufigen Rezidiven ist der Gipfel der IgM-Kurve niedriger. Einem Titerabfall folgt nach 8 Wochen eine erneute Zunahme der IgM-Antikörper.

Betrachtet man die Gesamtverläufe von Patienten mit mehreren E.coli-Rezidiven, so fällt auch auf, daß der HA-Abfall im Vergleich zum Abfall beim IgM-Verlauf bei Rezidiv verzögert ist. (Abb. 8)

Auffallend ist weiter, daß der Anstieg der IgG-AKT mit dem verzögerten Abfall der HA-AKT zusammenfällt.

Wenn auch die Indirekte Hämagglutinationsmethode gegenüber IgG-Antikörper viel weniger empfindlich ist, als die Indirekte Immunfluoreszenz (13) so ist doch sicher, daß mit dieser Methode auch diese Antikörper gemessen werden können. (21)

Die HA-Kurve scheint trotz nur geringer Empfindlichkeit gegenüber IgG-AK bis zu einem gewissen Grad von diesen Antikörpern beeinflußt zu sein, so daß sie besonders bei chron. Pyelonephritiden mit häufigen Rezidiven nicht exakt akute Schübe wiedergeben kann, da bei diesem chron. Krankheitsbild der Einfluß der vermehrt vorhandenen IgG-Antikörper verstärkt zum Tragen kommt. So lag bei unseren Untersuchungen der mittlere IgG-AKT bei Patienten mit häufigen Rezidiven konstant 1 Titerstufe über den Werten der Patienten, die nur einen akuten Schub hatten und anschließend rezidivfrei blieben.

Inwieweit ein insgesamt hemmender Effekt von den vermehrt vorhandenen IgG-Antikörper ausgeht und damit vielleicht mit verantwortlich ist für die relativ niederen IgM-Werte muß erst noch durch weitere Untersuchungen erforscht werden. Auch von anderen Autoren wurde diese Möglichkeit erörtert. (13)

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Suche nach weiteren Parametern zur Verbesserung der Diagnostik bei Patienten mit chronischen Pyelonephritiden wurden IgG- und IgM-AKT-Bestimmungen mit der Indirekten Immunfluoreszenztechnik durchgeführt.

Parallel dazu wurden die AKT mit der Indirekten Hämagglutinationsmethode ermittelt und die Ergebnisse beider Bestimmungstechniken miteinander verglichen:

1. Die Indirekte Hämagglutinationstechnik liefert zwar wesentlich höhere absolute AKT-Werte, die Spezifität der Indirekten Immunfluoreszenz ist aber mindestens gleich groß. Dies gilt besonders für IgM.
2. Bei Vergleich der AKT-Werte von Patienten mit und ohne Rezidiv tritt ein statistisch signifikanter Titerunterschied nur bei den IgM-Werten auf.
3. Der akute Schub einer chron. Pyelonephritis ist sowohl aus dem IgM/IFA- als auch aus dem HA-Verlauf ersichtlich. Eine wichtige Rolle scheint dabei eine wöchentliche Kontrolle des AKT vor allem zu Beginn der Infektion zu spielen, da dadurch die wesentlichen Titerveränderungen erfaßt werden können.
4. Alle wesentlichen Titerveränderungen finden in den ersten 10 Wochen nach Rezidiv statt.
5. Der HA-AKT-Verlauf gibt zu Anfang im wesentlichen den IgM-Verlauf wieder.
6. Nach einem akuten Schub steigt nicht nur IgM, sondern auch IgG an.
Eine Aussage über das Vorhandensein eines Rezidivs ist anhand der IgG-AKT-Bestimmungen jedoch nicht sicher möglich.
7. Vor allem bei chronischer PN mit häufigen Rezidiven ist der HA-AKT-Verlauf durch die vermehrt vorhandenen IgG-AK beeinflusst. Der mittlere IgG-AKT liegt konstant eine Titerstufe über den Werten bei Patienten, die einen akuten Schub hatten und anschließend rezidivfrei blieben.

L I T E R A T U R

- 1) ANDERSEN, H.J., HANSON, L.A., LINCOLN, K., ØRSKOV, I., ØRSKOV, F., WINBERG, J.: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. IV. Relation of the coli antibody titre to clinical picture and to serological type of the infecting *Escherichia coli* in acute, uncomplicated urinary tract infections.
Acta Paediatr. Scand. 54:247 (1965)
- 2) ANDERSEN, H.J.: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. VII. The relation of *E.coli* antibodies in Pyelonephritis as measured by homologous and common (Kunin) antigens.
J. Pediatr. 68:542 (1966)
- 3) ANDERSEN, H.J.: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. IX. Determination of *E.coli* antibodies by a polyvalent antigen.
Acta Paediatr. Scand. 56:637 (1967)
- 4) ANDERSEN, H.J.: Clinical studies on the antibody response to *E.coli* O-antigens in infants and children with urinary tract infections, using a passive haemagglutination technique.
Acta Paediatr. Scand. (Suppl.) 180 (1968)

- 5) ALLANSMITH, M., MC.CLELLAN, B.H., BURDERWORTH, M. & MALONEY, J.R.: The development of immunoglobulin levels in man.
J. Pediatr. 72:276 (1968)
- 6) BADER, R.E. Tübingen: Persönliche Mitteilung
- 7) BERG, T., JOHANSSON, S.G.O.: Immunoglobulin levels during childhood, with special regard to IgE.
Acta Paediatr. Scand. 58:513 (1969)
- 8) BERGSTRÖM, T., LINCOLN, K., ØRSKOV, F., ØRSKOV, I., WINBERG, J.: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. VIII. Reinfection vs. relapse in recurrent urinary tract infections. Evaluation by means of identification of infecting organisms.
J. Pediatr. 71,1:13 (1967)
- 9) BIEGELEISEN, J.Z., BRADSHAW, B.R., MOODY, M.D.: Demonstration of brucella antibodies in human serum. A comparison of the fluorescent antibody and agglutination techniques.
J. Immunol. 88:109 (1961)
- 10) BRAVENY, I., DISKO, R., MUSSNTIG, H.: IgG- und IgM-Antikörper als diagnostisches Kriterium bei der Toxoplasmose
Med. Microbiol. Immunol.
im Druck (1974)

- 11) BROWN, G.C., MAASSAB, H.F., VERONELLI, J.A.,
FRANCIS, TH.: Detection of rubella antibodies in human serum by the indirect fluorescent antibody technique.
Science 145:943 (1964)
- 12) BRUMFITT, W., PERCIVAL, A.: Serum antibody response as an indication of renal involvement in patients with significant bacteriuria.
in: Kass, E.H.: Progress in pyelonephritis.
Cavis, Philadelphia 1965
- 13) COHEN, I.R., NORINS, L.C., JULIAN, A.J.: Competition between and effectiveness of IgG and IgM antibodies in indirect fluorescent antibody and other tests.
J. Immunol. 98,1:143 (1967)
- 14) COONS, A.H.: Labelled antigens and antibodies.
Annu. Rev. Microbiol. 8:333 (1954)
- 15) COONS, A.H.: Fluorescent antibody methods, General Cytochem. Methods
1:339 (1958)
- 16) COONS, A.H.: Immunofluorescence.
Public Health Rep. (Wash.)
75:937 (1960)
- 17) COONS, A.H.: The beginnings of immunofluorescence.
I. Immunol. 87:499 (1961)

- 18) COONS, A.H., CREECH, J.J., JONES, R.N.: Immunological properties of an antibody containing fluorescent group
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
47,200 (1941)
- 19) EHRENKRANZ, N.J., CARTER, M.J.: Immunologic studies in urinary tract infections.
I. The hemagglutinin response to Escherichia O-antigens in infections of varying severity.
J. Immunol. 92:798 (1964)
- 20) HANSHAW, J.B.: Congenital cytomegalovirus infection: Laboratory methods of detection.
J. Pediatr. 75,II:1179 (1969)
- 21) HANSON, L.A., HOLMGREN, J., JODAL, U., WINBERG, J.: Precipitating antibodies to E. coli antigens: A suggested difference in the antibody response of infants and children with first and recurrent attacks of pyelonephritis.
Acta Paediatr. Scand. 58:506 (1969)
- 22) HANSON, L.A., HOLMGREN, J., JODAL, U., KAIJSER, B.: Characterization of precipitating antibodies to E.coli O-antigen in infants and children with acute pyelonephritis.
Clin. Exp. Immunol. 8:573 (1971)

- 23) HANSON, L.A., WINBERG, J.: Untersuchungen zum Nachweis
differenten Serumantikörper ge-
gen das O-Antigen von E.coli
bei Kindern mit Pyelonephritis
Nature 212:1495 (1966)
- 24) HEWSTONE, A.S., WHITACKER, J.: The correlation of urete-
ric urine bacteriology and ho-
mologous antibody titre in
children with urinary infection.
J. Pediatr. 74:540 (1969)
- 25) HOLMGREN, J., HANSON, L.A., JODAL, U., KAIJSER, B., WIN-
BERG, J.:
Studies of the antibody response
to E.coli in children with uri-
nary tract infection and its
possible protective implications
as analysed in experimental ani-
mals.
in: Losse, H., Kienitz, M:
Pyelonephritis (Bd. III).
G. Thieme, Stuttgart 1972
- 26) JULIAN, A.J., LOGAN, L.C., NORINS, L.C.: Early syphilis:
Immunoglobulins reactive in im-
munofluorescence and other se-
rologic tests.
J. Immunol. 102:1250 (1969)
- 27) KHAN, W.N., ALI, R.V., WERTHMANN, M., ROSS, S.: Immuno-
globulin M. determinations in
neonates and infants as an ad-
junct to the diagnosis of infec-
tion.
J. Pediatr. 75/6,II:1282 (1969)

- 28) KIENITZ, M.: Der Wert serologischer Untersuchungen für Diagnose und Verlaufsbeurteilung von Harnwegsinfektionen des Kindes.
Dtsch. Med. Wochenschr. 21:1155 (1970)
- 29) KLEINSCHMIDT, H.: in: Lehrbuch der inneren Medizin herausgegeben von H. Denning
S. 286 G. Thieme Verlag, Stgt. (1969)
- 30) LEHMANN, J.D., SMITH, J.W., MILLER, T.E., BARNETT, J.A.,
SANFORD, J.P.: Local immune response in experimental pyelonephritis.
J. Clin. Invest. 47:2541 (1968)
- 31) LINDBLAD, B.S., EKENGREN, K.: The long term prognosis of non obstructive urinary tract infection in infancy and childhood after the advent of sulphonamides.
Arch. Dis. Child. 45 (1970)
- 32) LOEW, H., KÜSTER, K., RITZERFELD, W.: Die bedeutung der Keimzahl für die Ausbildung des Antikörpertiters und die Entwicklung der experimentellen Pyelonephritis.
Int. J. Clin. Pharmacol. 63:276 (1972)
- 33) MAMUNES, P., CAVE, V.G., BUDELL, J.W., ANDERSEN, J.A.,
STEWART, R.: Early diagnosis of neonatal syphilis evaluation of a gamma M-Fluorescent trponemal antibody test.
Am. J. Dis. Child 120:17 (1970)

- 34) MARGET, W.: Harnwegsinfektionen im Kindesalter.
Die Heilkunst 1:1 (1971)
- 35) MARGET, W.: Behandlung der Harnwegsinfektion
im Kindesalter.
Med. Klin. 37:1168 (1972)
- 36) MC. CABE, W.R., JACKSON, G.G.: Treatment of pyelonephritis.
N. Engl. J. Med. 272:1037 (1965)
- 37) MÜLLER, F.: Neue Möglichkeiten in der immuno-
logischen Diagnostik der Trepon-
emen-Infektion (Syphilis)
Vorl. Mitteilung (1973)
- 38) MYERS, J., SARGENT, A.U., COHEN, J.J.: Whole antiserum ver-
sus the gamma-clobulin fraction of
antiserum in the indirect fluores-
cent antibody technique.
Immunology 9:101 (1965)
- 39) NEEDELL, M.H., NETER, E., STAUBITZ, W.J., BINGHAM, W.A.:
The antibody (hemagglutinin) res-
ponse of patients with infections
of urinary tract.
J. Urol. 74:674 (1955)
- 40) NETER, E., BERTRAG, E.F., ZAK, D.A., MURDOCK, M.R. ARBES-
MAN, C.E.: Studies on hemagglutination and
hemolysis by E.coli antisera.
J. Exp. Med. 96:1 (1952)
- 41) NETER, E.: Indirect bacterial hemagglutination,
and its application to the study
of bacterial antigens and serologic
diagnosis.
Pathol. Microbiol. 28:859 (1965)

- 42) NETER, E., OBERKIRCHNER, O.R., RUBIN, M.I., STEINHART, J.M., KREZESKA, I.: Patterns of antibody response of children with infections of the urinary tract.
Pediat. Res. 4:500 (1970)
- 43) PERCIVAL, A., BRUMFITT, W., DE LOUVOIS, J.: Serum antibody levels as an indication of clinically inapparent pyelonephritis.
Lancet II:1027 (1964)
- 44) PFAUNDLER, M.: Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli- und Proteusbacillosen. Zentralbl. Bakteriол. (Orig.) 23:9, 1,131
- 45) POETSCHKE, G.: Fluoreszenz-markierte Antikörper in Forschung und Diagnostik. I. Allgemeines und Methodisches Ärztl. Lab. 10:353 (1964)
- 46) REMINGTON, J.S.: The present status of the IgM fluorescent antibody technique in the diagnosis of congenital toxoplasmosis
J. Pediatr. 75,II:1116 (1969)
- 47) ROSS, M.R., BORMAN, E.K.: Direct and indirect fluorescent-antibody techniques for the psittacosislymphogranuloma venereum-trachoma group of agents.
J. Bacteriol. 85:851 (1963)

- 48) SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden
3. neubearbeitete und erweiterte
Auflage mit neuer Bibliographie.
Springer-Verlag Berlin,
Heidelberg, New York
- 49) SANFORD, J.P., BARNETT, J.A.: Immunologic responses in
urinary tract infections.
J.A.M.A. 7:587 (1965)
- 50) SCOTTI, A., LOGAN, L., CALDWELL, J.G.: Fluorescent anti-
body test for neonatal congenital
syphilis:
A progress report
J. Pediatr. 75,II:1129 (1969)
- 51) SEVER, J.L.: Immunoglobulin determinations
for the detection of perinatal
infections.
J. Pediatr. 75,II:1111 (1969)
- 52) SODEMAN, W.A., JEFFERY, G.M.: Indirect fluorescent anti-
body test for malaria antibody.
Public Health Rep. 81:1037 (1966)
- 53) SCHARZ-SCHULZ, H.: Bewertung des Antikörpertiters im
Krankheitsbild der chronischen
Harnwegsinfektion im Kindesalter.
Inaug. Diss. München 1972
- 54) SCHMITZ, H., HAAS, R.: Erfahrungen mit der fluorescenz-
serologischen Bestimmung von Anti-
körpern gegen Cytomegalie-Virus
Z. Med. Mikrobiol. Immunol. 155:283
(1970)

- 55) SCHUR, P.H., BOREL, H., GELFAND, E.W., ALPER, C.A.,
ROSEN, F.S.: Selective gamma-G globulin deficiencies in patients with recurrent pyogenic infections.
N. Engl. J. Med. 283:631 (1970)
- 56) STROIM, W.D., KNOGHE, H., SIETZEN, W.: Antikörperbestimmung mit einem polyvalenten E. coli-Antigen bei Harnwegserkrankungen.
Dtsch. Med. Wochenschr. 96:1827 (1971)
- 57) THOMAS, J.B., SIKES, R.K., RICKER, A.S.: Evaluation of indirect fluorescent antibody technique for detection of rabies antibody in Humansera
J. Immunol. 91:721 (1963)
- 58) TIETGEN, G., ROHWEDDER, H.J.: Untersuchungen über das Vorkommen von Serumantikörpern bei Pyelonephritiden im Kindesalter.
Med. Welt 21:1234 (1969)
- 59) VOSTI, K.L., MONTO, A.S., LOWEL A. RANTZ: Host-parasite interaction in patients with infections due to Escherichia coli. II. Serologic response of the host.
J. Lab. Clin. Med. 66:615 (1965)
- 60) WAGNER, M.: Fluoreszierende Antikörper und ihre Anwendung in der Mikrobiologie. (Band 5)
Gustav Fischer Verlag, Jena (1967)

- 61) WHITTAKER, J., HEWSTONE, A.S.: The bacteriologic differentiation between upper and lower urinary
J. Pediatr. 3:364 (1969)
- 62) WILLIAMSON, J., BREINERD, H., SCAPARONE, M., CHUCH, S.P.: Antibacterial antibodies in coliform urinary tract infections.
Arch. Intern. Med. 114:222 (1964)
- 63) WINBERG, J., ANDERSEN, H.J., HANSON, L.A., LINCOLN, K.: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood.
I. Antibody response in different types of urinary tract infections caused by coliform bacteria.
Brit. Med. J. II:524 (1963)
- 64) WINBERG, J., BERGSTRÖM, T., HANSON, L.A.: Neue Gesichtspunkte zur Harnwegsinfektion mit E.coli.
Monatsschr. Kinderheilkd. 9:506 (1971)

D A N K

Herrn Prof. Dr. med. K. Betke sowie Herrn Prof. Dr. med. W. Marget bin ich für die Durchsicht der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. F. Daschner und Herrn Priv.-Doz. Dr. med. I. Braveny vom Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Technischen Universität München möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie die Anregungen und die Betreuung der Arbeit danken.

Die Durchführung der Aufgabe war nur möglich durch die Zusammenarbeit zwischen der Universitätskinderklinik München und dem Institut für Hygiene und medizinische Mikrobiologie der Technischen Universität München.

Für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung danke ich Herrn Dr. Blomer vom Institut für medizinische Datenverarbeitung.

L E B E N S L A U F

Am 22. November 1947 wurde ich als drittes Kind des Gastwirts Gottlob Waldmann und seiner Ehefrau Hilde, geb. Pflüger in Creglingen geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1953 bis 1957 in Neubronn. Nach 3 Jahren Progymnasium in Weikersheim trat ich in das Kirchliche Aufbaugymnasium, Michelbach/Bilz ein, wo ich 1966 die Reifeprüfung ablegte.

Nach Ableistung des Wehrdienstes begann ich im Sommersemester 1968 mit dem Tiermedizinstudium. Ab Wintersemester 1969 wechselte ich zur Zahnmedizin über und schloß im März 1974 mit dem Staatsexamen ab.

Ab Sommersemester 1970 studierte ich gleichzeitig im Doppelstudium Humanmedizin und legte im April 1972 die Ärztliche Vorprüfung ab. Nach Abschluß der klinischen Semester möchte ich mich auf das Staatsexamen in Allgemeinmedizin vorbereiten.

München im Dezember 1974

